



**Universidade de Aveiro** Departamento de Química  
2019

**Francisca da Silva  
Mendes**

**Desenvolvimento de Novos Produtos e  
Análise e Otimização da Pasta de  
Azeitona na empresa Meia Dúzia®**





**Universidade de Aveiro** Departamento de Química  
2019

**Francisca da Silva  
Mendes**

**Desenvolvimento de Novos Produtos e  
Análise e Otimização da Pasta de Azeitona na  
empresa Meia Dúzia®**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, ramo de Alimentar, realizada sob a orientação científica do Professor Dr. Brian Goodfellow, Professor Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Eng. Andreia Ferreira, Fundadora e Diretora Geral da empresa meia.dúzia®.





## **Júri**

Presidente

Professor Doutor Mário Manuel Quialheiro  
Simões.  
Professor Auxiliar da Universidade de Aveiro

Arguente

Doutora Carla Alexandra Pina da Cruz Nunes  
Professora Auxiliar Convidada da Universidade de  
Aveiro

Orientador

Professor Doutor Brian James Goodfellow  
Professor Auxiliar da Universidade de Aveiro



## palavras-chave

Pasta de Azeitona; FTIR; Doces de Fruta; Chutneys; Desenvolvimento de Novos Produtos Alimentares.

## resumo

O estágio curricular no âmbito desta tese de mestrado foi realizado na empresa meia.dúzia®, especializada na produção de doces de fruta com sabores tipicamente portugueses e embalados em bisnagas de alumínio. Para o ano letivo definiram-se três objetivos principais sendo que o primeiro passava por conhecer a realidade empresarial. A aquisição de conhecimentos e competências na produção destes produtos surgiu através da participação ativa nas várias atividades da empresa, nomeadamente as várias etapas de produção, higienização, embalamento e rotulagem dos produtos. O segundo objetivo deste estágio passa pela análise e otimização das pastas de azeitona. Notou-se o surgimento de bisnagas opadas, que pode ser um indicador de contaminação microbiológica, comprometendo a segurança e qualidade do produto. Para tentar detetar diferenças na composição de 4 amostras de pasta de azeitona diferentes (pasta Negrinha do Douro, opada e conforme; pasta Galega com Figo, opada e conforme), realizou-se uma análise FTIR, por este ser um método simples, rápido e económico. Com esta análise percebemos que é possível distinguir não só as duas variedades de pasta, mas também é possível encontrar diferenças na composição de bisnagas opadas e não opadas. Depois da análise à composição da pasta, testámos um novo método de produção, que consistia em submeter as azeitonas a um processamento térmico, com o objetivo de otimizar o produto e evitar o seu desperdício. Verificou-se que a Pasta de Azeitona Negrinha do Douro perdeu, em média, 8,34% de humidade, ao ser cozinhada, mas passados 2 meses da sua produção notou-se que parte das bisnagas continuavam a opar. Futuramente continuará a produzir-se pasta de azeitona com este novo método, mas com uma percentagem de sal maior para tentar reduzir possíveis contaminações. Por fim, o terceiro objetivo, seria o desenvolvimento de novos produtos. Este objetivo surge da necessidade de constante inovação que é fundamental para o crescimento da empresa, bem como da vontade de criar novos produtos que vão de encontro às atuais tendências de mercado. O processo de desenvolvimento de novos produtos passou por diferentes etapas, desde a geração de ideias até aos testes preliminares e análise sensorial. No total testaram-se 6 cremes de chocolate, 12 chutneys e 4 doces de fruta. No próximo ano está previsto que se avance com a comercialização de alguns dos sabores testados.



**keywords**

Olive Paste; FTIR; Fruit jams; Chutneys; New food product development.

**abstract**

This curricular internship was carried out at the company meia.dúzia®, that is specialized in the production of fruit jams in tubes, with typical Portuguese flavors. The internship had three major goals: the first one was getting to know the company and its context in business terms. The acquisition of knowledge and skills related to the production of these products came through active participation in the various activities of the company, namely in the various stages of production, cleaning, packaging and labeling of products. The second goal of this internship was the analysis and optimization of olive paste. It had been noticed that swollen tubes were a common occurrence, probably due to microbiological contamination, which was jeopardizing the product safety and quality. In order to detect differences in the composition of 2 different olive paste samples (olive paste “Negrinha do Douro” - swollen and normal tube; olive paste “Galega” with fig - swollen and normal tube) an FTIR analysis was carried out. Using this simple, fast and cheap method it was possible to distinguish not only the two varieties of olive paste, but also to find differences in the composition of swollen and non-swollen tubes. After analyzing the composition of the paste, a new production method was tested, which consisted of heat treatment of the olives, in order to optimize the product and avoid the product waste. The olive paste “Negrinha do Douro” lost, on average, 8.34% moisture when treated in this way. However, after 2 months storage some tubes continued to swell. In the future olive paste will continue to be produced with this new method, but with a higher salt content in order to try to reduce possible microbial growth and spoilage. The third and final goal was the development of new products. This comes from the constant need for innovation that is fundamental for a company’s growth, as well as the desire to create new products that meet current market trends. The process of developing new products went through different stages: idea generation; preliminary testing and finally sensory analysis. In total 6 chocolate creams, 12 chutneys and 4 fruit jams were tested. Next year it is expected to move forward with the commercialization of some of the flavors tested.



## ÍNDICE

<b>I – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Apresentação da entidade acolhedora.....	1
1.2 Contextualização .....	4
1.2.1 Matéria-prima.....	4
1.2.2 Segurança e Qualidade Alimentar na Empresa.....	7
1.3 Objetivos de Trabalho .....	13
1.3.1 Conhecer realidade empresarial .....	13
1.3.2 Análise e otimização da Pasta de Azeitona.....	13
1.3.3 Desenvolvimento de novos produtos .....	14
<b>II – CONHECER A REALIDADE EMPRESARIAL .....</b>	<b>15</b>
2.1 Produção e embalagem .....	15
2.1.1 Produção de doces e chutneys.....	15
2.1.2 Produção de pasta de azeitona.....	18
2.2 Outras atividades .....	21
<b>III – ANÁLISE E OTIMIZAÇÃO DA PASTA DE AZEITONA .....</b>	<b>23</b>
3.1 Pasta de Azeitona .....	23
3.2 FTIR .....	24
3.3 Análise da Pasta de Azeitona por FTIR.....	30
3.2.1 Materiais e Métodos .....	30
3.2.2 Resultados e Discussão .....	32
3.2.3 Conclusão.....	44
3.3 Otimização da Pasta de Azeitona .....	45
<b>IV- DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS.....</b>	<b>47</b>
4.1 Testes preliminares de novas formulações.....	48
4.2 Análise Sensorial .....	50
<b>V – CONCLUSÃO DO RELATÓRIO DE ESTÁGIO .....</b>	<b>55</b>
<b>VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>VII – ANEXOS .....</b>	<b>61</b>





## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Gama de produtos meia.dúzia® <sup>1</sup> .....	3
Tabela 2: Análise de perigos nas etapas de receção de matérias-primas e receção de embalagens para a pasta de azeitona. ....	8
Tabela 3: Análise de perigos nas etapas de armazenamento de matérias-primas e armazenamento de embalagens para a pasta de azeitona. ....	10
Tabela 4: Doces, chocolates e chutneys produzidos durante o período de estágio curricular da aluna.....	16
Tabela 5: Características organoléticas da Pasta de azeitona Negrinha do Douro e da Pasta de azeitona Galega com Figo.....	19
Tabela 6: Características microbiológicas da Pasta de azeitona Negrinha do Douro e da Pasta de azeitona Galega com Figo. ....	20
Tabela 7: Pastas de azeitona produzidas durante o período de estágio curricular da aluna.	21
Tabela 8: Regiões dos espetros FTIR escolhidas para análise. Adaptado de <sup>13</sup> . ....	35
Tabela 9: Testes preliminares: novos sabores de cremes de chocolate, juntamente com a respetiva lista de ingredientes.....	48
Tabela 10: Testes preliminares: novos sabores de doces de fruta, juntamente com a respetiva lista de ingredientes.....	48
Tabela 11: Testes preliminares: novos sabores de chutneys, juntamente com a respetiva lista de ingredientes. ....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Travel Kit – Exemplo de um kit de degustação meia.dúzia® contendo um doce de fruta, duas pastas de azeitona, um chutney e dois tipos de creme de chocolate.....	1
Figura 2: Loja meia.dúzia®   Rua Santa Catarina, Porto .....	2
Figura 3: Produção biológica de mirtilos e Doce extra de Mirtilo com baunilha e Vinho do Porto.....	5
Figura 4: Mapa das frutas de Portugal com denominação de origem protegida (DOP) e indicação geográfica protegida (IGP).....	6
Figura 5: Refratómetro, termómetro infravermelho e medidor de pH. ....	12
Figura 6: A máquina envasadora de bisnagas metálicas, Tonazzi Colibri Matic.....	17
Figura 7: Diagrama de fluxo de produção da pasta de azeitona.....	18
Figura 8: a) Pack 3 azeites contendo: Azeite extra virgem com pimenta verde (60ml), Azeite extra virgem com malagueta (60ml) e Azeite extra virgem com pimenta preta (60ml); b) Pack 3 licores contendo licor de ervas aromáticas (60ml), licor de morango (60ml) e licor de café (60ml); c) Chá verde com menta e rosas (20g).....	22
Figura 9: Representação do espectro eletromagnético, destacando a radiação infravermelha. ....	24
Figura 10: Exemplo de um espectro de azeite na região $2875.5\text{-}675\text{ cm}^{-1}$ . Retirado de <sup>28</sup> . ...	25
Figura 12: Ilustração do modelo PCA. Retirado de <sup>37</sup> .....	28
Figura 13: Ilustração dos modelos PLS e OPLS. Retirado de <sup>37</sup> .....	29
Figura 14: Espectrómetro FT-IR ALPHA II (Bruker), nos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. ....	30
Figura 15: Esquema das diferentes análises realizadas: a) espectro completo ( $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ ); b) espectro sem linha de base ( $4000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ); c) espectro sem linha de base e sem pico de água ( $3000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ).....	32
Figura 16: Output scores centred PCA; espectro sem linha de base ( $4000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ). ....	33
Figura 17: Scores centred PCA a) Espectro completo; b) Espectro sem linha de base; c) Espectro sem linha de base e sem pico de água. ....	33
Figura 18: Espectro $3000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ : a) Scores pareto PLS; b) Loadings pareto PLS. ....	34
Figura 19: Espectro $3000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ : a) Scores pareto OPLS; b) Loadings pareto OPLS. ....	35

Figura 20: espectro completo (4000-500 $\text{cm}^{-1}$ ), Scores centred PLS: a) grupos A e B; b) grupos C e D.....	36
Figura 21: Espectro 3000-900 $\text{cm}^{-1}$ : a) espectros de absorção da primeira derivada; b) espectros de absorção da segunda derivada; c) centred PCA, 1ª derivada; d) centred PCA, 2ª derivada. ....	37
Figura 22: Espectro 3000-900 $\text{cm}^{-1}$ : a) pareto PLS para primeira derivada; b) pareto OPLS para primeira derivada; c) pareto PLS para segunda derivada; d) pareto OPLS para segunda derivada. ....	38
Figura 23: Loadings para espectros da segunda derivada (3000-900 $\text{cm}^{-1}$ ): a) pareto PLS; b) pareto OPLS. ....	39
Figura 24: Espectro 900-3000 $\text{cm}^{-1}$ : a) VIP pareto PLS para primeira derivada; b) VIP pareto PLS para segunda derivada; .....	40
Figura 25: Scores pareto PLS, primeira derivada, 4000-500 $\text{cm}^{-1}$ : a) Scores grupos A e B; b) Scores grupos C e D; c) Loadings pareto PLS grupos A e B; d) Loadings pareto PLS grupos C e D.....	42
Figura 26: a) Moisture Analyser DBS (KERN) disponibilizado pelos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro; b) Percentagem de humidade, em média, e respetivo desvio-padrão, da pasta de Azeitona Negrinha do Douro cozinhada e não-cozinhada. ....	46
Figura 27: Classificação global do produto, em média, e respetivo desvio-padrão. ....	51
Figura 28: Intensidade dos sabores primários (doce, salgado, amargo e ácido) para o teste do produto creme de chocolate branco e framboesas. ....	52
Figura 29: Classificação da textura dos produtos tendo em conta a sua espessura (em média). ....	52
Figura 30: Classificação da textura dos produtos tendo em conta a sua homogeneidade (em média). 5= Bifásico; 1= Homogéneo.....	53



# I – INTRODUÇÃO

## 1.1 Apresentação da entidade acolhedora

A meia.dúzia® - *Portuguese Flavours Experience* - foca-se em proporcionar experiências de degustação de sabores tipicamente Portugueses, quer seja no formato de doces de fruta, cremes de chocolate, pastas ou chutneys. Inspirados pelos tubos de tinta do universo da pintura, criaram uma vasta seleção de produtos em bisnagas coloridas, utilizando uma paleta de cores com tons das frutas, desde o amarelo da pera ao verde da maçã e ao azul do mirtilo<sup>1</sup>. Anualmente são produzidos, em média, 15 000 kg de doces de fruta e 200 000 tubos.



Figura 1: Travel Kit – Exemplo de um kit de degustação meia.dúzia® contendo um doce de fruta, duas pastas de azeitona, um chutney e dois tipos de creme de chocolate.

A empresa foi fundada em 2012, com sede em Vila Nova de Famalicão. No início deste estágio a meia.dúzia® tinha apenas uma loja própria, na Rua das Flores, no Porto. Atualmente tem mais duas lojas próprias também na zona do Porto, uma na Travessa da Bainharia e outra na Rua Santa Catarina. Está ainda presente em 15 países diferentes através da sua rede de distribuidores internacionais. Entre muitos outros espaços, a Meia Dúzia já faz parte das prestigiadas marcas comercializadas nos Armazéns do Harrods no Reino Unido, nas Galerias Lafayette no Dubai ou até no menu dos hotéis Hilton em Praga<sup>2</sup>.

Uma das principais características diferenciadoras dos produtos meia.dúzia® encontra-se nas suas embalagens. As bisnagas de alumínio dispensam os frascos e as

colheres e facas de barrar, além de tornarem a exposição do produto ao ar após abertura muito reduzida, o que ajuda a minimizar a oxidação da fruta com a luz, mantendo assim as suas cores originais<sup>1</sup>.



Figura 2: Loja meia.dúzia® | Rua Santa Catarina, Porto

Tabela 1: Gama de produtos meia.dúzia®<sup>1</sup>

COMPOTAS			
Doce Extra de ananás dos Açores com erva-príncipe (20g) (75g)	Doce Extra de cereja do Fundão com Brandy (75g)	Doce Extra de mirtilo com baunilha e vinho do Porto (75g)	Doce Extra de pera rocha e groselha com cidreira e pimenta rosa (75g)
Doce Extra de morango com Vinho do Porto e Malagueta (75g)	Doce Extra de figo e laranja com vinho do Porto (75g)	Doce de abóbora e laranja com mel de rosmaninho e eucalipto, canela e vinho do Porto (20g) (75g)	Doce de abóbora e laranja com mel de rosmaninho e eucalipto, canela e amêndoa (75g)
Doce Extra de kiwi com moscatel do Douro (75g)	Doce Extra de laranja com vinho da Madeira (20g) (75g)	Doce Extra de amora com avelã e noz-moscada (75g)	Doce Extra de dióspiro e laranja com noz e moscatel do Douro (75g)
Doce Extra de framboesa e lima com hortelã (75g)	Doce Extra de amora com alfazema (75g)	Doce Extra de figo e laranja com canela (20g) (75g)	Doce Extra de framboesa e groselha com lúcia-lima (75g)
Doce Extra de ameixa rainha cláudia com tomilho-limão (75g)	Doce Extra de maçã bravo de Esmolfe com canela (20g) (75g) (200g)	Doce Extra de pera rocha com moscatel do Douro (75g)	Doce Extra de maracujá com gengibre (75g)
Doce Extra de maçã bravo de Esmolfe com hortelã e vinho do Porto (75g)	Doce Extra de morango e framboesa com hortelã (75g)	Doce Extra de banana e clementina com rum (75g)	Doce Extra de banana da madeira e clementina com canela (200g)
Doce de abóbora e laranja “do Algarve” com canela e amêndoa (200g)	Doce Extra de morango com hortelã (20g) (200g)	Doce Extra de Framboesa e Amora (200g)	Doce Extra de mirtilo com cidreira (20g) (200g)
CREMES DE CHOCOLATE			
Creme de chocolate negro “São Tomé” com morango e malagueta (20g) (75g)	Creme de chocolate negro “São Tomé” com laranja (20g) (75g)	Creme de chocolate negro “São Tomé” com amora, avelã e noz-moscada (20g) (75g)	Creme de chocolate negro “São Tomé” com mirtilo e vinho do Porto (20g) (75g)
Creme de chocolate negro “São Tomé” com ananás dos Açores (20g) (75g)	Creme de chocolate negro “São Tomé” com cereja do fundão e brandy (20g) (75g)	Creme de chocolate negro “São Tomé” com maracujá	Creme de chocolate branco com laranja do Algarve, Yuzu e Lyokan
PASTAS E CHUTNEYS			
Pasta de azeitona “Negrinha do Douro” (18g) (65g) (180g)	Pasta de azeitona Galega com figo (18g) (65g) (180g)	Chutney de pimento vermelho (20g) (75g) (200g)	Chutney de manga (75g) (200g)
MEL			
Mel colhido na “Serra da Lousã” com gengibre (80g)	Mel multifloral (80g)	Mel de urzes Serra da Estrela com baga de sabugueiro (80g)	Mel de rosmaninho com maçã e canela (80g)
Mel de eucalipto com pera passa (80g)	Mel de flor de laranjeira com malagueta (80g)		

Os sabores meia.dúzia® já conquistaram prémios, como é o caso do Creme de Chocolate negro “São Tomé” com Ananás dos Açores que conquistou a designação de *great taste 2015* ou o Doce de Ameixa ‘Rainha Cláudia’ com tomilho-limão que conquistou o certificado *Superior taste Award 2015*. Atualmente a marca possui uma gama de 32 compotas, 8 cremes de chocolate, 2 pastas, 2 chutneys e 6 méis como se pode constatar na tabela 1. Além destes produtos a empresa vende ainda uma gama de 11 variedades de chá e 9 licores.

Os doces são preparados artesanalmente, com mais de 55% de frutas, embalados em bisnaga e cuidadosamente etiquetados e colocados em caixa manualmente. Estes são preparados maioritariamente com matérias-primas Portuguesas, como a maçã Bravo de Esmolfe, Pera Rocha, Cereja do Fundão e Ananás dos Açores, frutos DOP (Denominação de Origem Protegida) e IGP (Indicação Geográfica Protegida). São ainda utilizadas matérias-primas de produção em modo biológico como os mirtilos, groselhas, framboesas, figos e ervas aromáticas<sup>1</sup>. Aos doces são ainda adicionados vinhos tipicamente portugueses, como Vinho do Porto, Moscatel do Douro e Vinho da Madeira, ervas e flores aromáticas e frutos secos de produtores portugueses, entre outros ingredientes. Assim, o valor acrescentado dos seus produtos justifica-se pela escolha de matérias-primas de excelência sem recorrer a corantes ou aromas sintéticos.

## **1.2 Contextualização**

### **1.2.1 Matéria-prima**

As matérias-primas utilizadas na produção de compotas, chocolates, pastas e chutneys podem incluir frutas, frutos secos, mel, vinhos, ervas aromáticas e especiarias. Grande parte destas matérias-primas são de origem portuguesa, com o objetivo de valorizar sabores locais como a banana da Madeira, ananás dos Açores, cereja do Fundão, entre outros. Há ainda matérias-primas que são produzidas na própria empresa em modo biológico, como o mirtilo e a abóbora. Mas nem sempre é possível utilizar produtos portugueses, como é o caso do chocolate uma vez que não há produções de cacau em Portugal, como tal, neste caso, optou-



se pela utilização de Chocolate São Tomé pela história das ilhas de São Tomé e Príncipe, que foram, no passado, uma colónia portuguesa.



Figura 3: Produção biológica de mirtilos e Doce extra de Mirtilo com baunilha e Vinho do Porto.

Destacam-se as frutas de denominação registada pela sua importância na economia portuguesa. Atualmente existem três regimes de qualidade: (i) Denominação de Origem Protegida (DOP); (ii) Indicação Geográfica Protegida (IGP); e (iii) Especialidade Tradicional Garantida (ETG)<sup>3</sup>. São frutos DOP a ameixa Rainha Cláudia, o ananás dos Açores, a maçã Bravo de Esmolfe e a pera rocha. Já a cereja do Fundão é um exemplo de um fruto IGP. Também as azeitonas são de origem portuguesa, sendo a azeitona Galega proveniente da Beira Baixa e Alto Alentejo e a azeitona Negrinha do Douro proveniente da região do Douro, como o nome indica e está classificada como DOP. Na figura 4 encontra-se um mapa de Portugal assinalando regiões com as principais frutas de denominação registada, muitas destas utilizadas no fabrico de produtos meia.dúzia®.

Os produtos agrícolas com denominação registada estão associados à tradição, ruralidade, história, natureza, região ou área geográfica de um país. Portugal possui uma diversidade importante destes produtos que emergiu das características singulares e conhecimentos populares e que lhes conferem particularidades únicas; assim, o processo de certificação é um instrumento importante e eficaz para promover a biodiversidade, potenciando a sustentabilidade económica de um país, sobretudo de regiões desfavorecidas<sup>3</sup>.

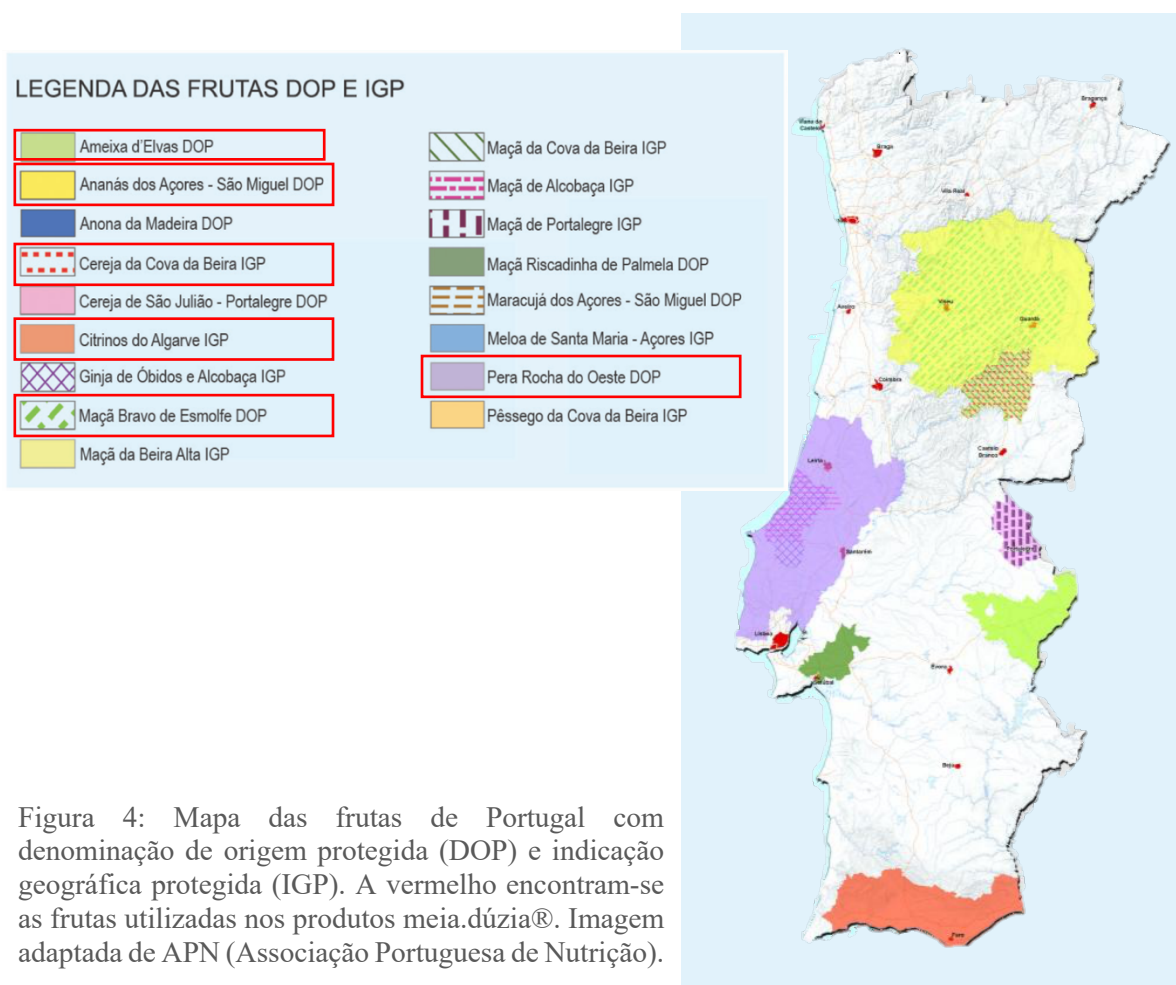


Figura 4: Mapa das frutas de Portugal com denominação de origem protegida (DOP) e indicação geográfica protegida (IGP). A vermelho encontram-se as frutas utilizadas nos produtos meia.dúzia®. Imagem adaptada de APN (Associação Portuguesa de Nutrição).

Os produtos que beneficiam de uma DOP ou de uma IGP distinguem-se por terem uma "qualidade" específica, diferenciada e ligada à sua origem geográfica e ao saber fazer tradicional e também pelas suas características sensoriais – gosto, aroma, textura, suculência, tenrura, etc., que se afastam absolutamente dos produtos correntes no mercado<sup>4</sup>. Verifica-se que para Portugal estes produtos apresentam uma importância considerável, justificada pelo número de produtos registados e pelo facto de Portugal ser o 4º país europeu com maior número de alimentos com denominação registada<sup>3</sup>.

### **1.2.2 Segurança e Qualidade Alimentar na Empresa**

A qualidade alimentar determina as características qualitativas de alimentos que são aceitáveis para todos os consumidores e define padrões mais altos para assegurar uma melhor qualidade dos produtos alimentares<sup>5</sup>. Durante o processamento de produtos alimentares, diferentes etapas podem afetar a qualidade do produto final e essas mesmas etapas podem ser identificadas como pontos de controle. O processo de produção de alimentos deve ser monitorizado através da verificação da qualidade nesses pontos de controle<sup>6</sup>.

De acordo com o primeiro princípio sobre o qual assenta o plano HACCP, descrito pelo Codex Alimentarius – Princípios gerais de higiene dos alimentos CAC/RCP 1-1969, Rev 4 (2003), deve-se elaborar uma análise de perigos, ou seja, identificar possíveis perigos que podem ocorrer no alimento. Um perigo pode definir-se pela presença de um contaminante biológico, químico ou físico nas matérias-primas, produtos intermédios ou finais que possa causar danos ao consumidor<sup>7</sup>.

É ainda importante avaliar o risco associado a cada perigo. O risco define-se como a probabilidade de determinada condição conduzir à ocorrência de intoxicação/infeção alimentar. Depende da severidade do perigo e da sua probabilidade de ocorrência.

Os perigos podem classificar-se como físicos, químicos ou biológicos. Um perigo físico é geralmente descrito como uma matéria ou objeto estranho e inclui qualquer matéria física que por norma não se encontra em alimentos e que pode causar danos a um indivíduo. Todos os produtos alimentícios são compostos por produtos químicos, e todos os produtos químicos podem ser tóxicos a um certo nível de dosagem, no entanto, vários produtos químicos não são permitidos em alimentos e outros estabeleceram limites em que são permitidos, caso contrário, podemos estar na presença de um perigo químico<sup>8</sup>. Por fim, existem os perigos biológicos que surgem quando um indivíduo suscetível consome um alimento contaminado por um, ou por vários agentes patogénicos microbianos viáveis e / ou toxinas microbianas<sup>9</sup>.

Tabela 2: Análise de perigos nas etapas de receção de matérias-primas e receção de embalagens para a pasta de azeitona.

Legenda: F - Físico; Q - Químico; B - Biológico; P – Probabilidade (0-10); S – Severidade (0-10); IR - Índice de Risco (IR= PxS)

Etapa	Perigo		Avaliação do Perigo			Causas	Medidas de controlo
			P	S	IR		
Receção da azeitona	F	Contaminação por corpos estranhos (como terra, pedras, pó)	3	3	9	Mau acondicionamento pelo fornecedor	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Controlo visual da matéria fornecida
	Q	Contaminação por resíduos produtos fitofarmacêuticos/ contaminantes	2	3	6	Más práticas agrícolas, incumprimento dos procedimento de aplicação de produtos fitofarmacêuticos	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Uso de produtos produzidos em módulo biológico.
	B	Contaminação por Fungos/ Pragas (Mau estado de conservação)	3	1	3	Tempo excessivo ou mau armazenamento depois da colheita	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Controlo visual da matéria fornecida
Receção de ervas aromáticas frescas	F	Contaminação por corpos estranhos (terra, pedras, pó, etc.)	3	3	9	Mau acondicionamento pelo fornecedor	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Controlo visual da matéria fornecida
	Q	Contaminação por resíduos produtos fitofarmacêuticos/ contaminantes	2	3	6	Más práticas agrícolas, incumprimento dos procedimento de aplicação de produtos fitofarmacêuticos	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Uso de produtos produzidos em módulo biológico.
	B	Contaminação por Fungos/ Pragas (Mau estado de conservação)	3	1	3	Tempo excessivo ou mau armazenamento depois da colheita	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Controlo visual da matéria fornecida
Receção azeite, frutos secos, especiarias	F	Contaminação por corpos estranhos (inerentes ao processo transformação)	1	4	4	Incumprimento das boas práticas pelo fornecedor.	Fornecedor Qualificado. Controlo à receção para confirmação do acondicionamento por parte do fornecedor.
	Q	Contaminação por resíduos produtos fitofarmacêuticos/ contaminantes	2	3	6	Más práticas agrícolas, incumprimento dos procedimento de aplicação de produtos fitofarmacêuticos	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Uso de produtos produzidos em módulo biológico.
	B	Contaminação por Fungos/ Pragas (Mau estado de conservação)	3	1	3	Tempo excessivo ou mau armazenamento depois da colheita	Declaração de conformidade de boas práticas agrícolas. Controlo visual da matéria fornecida
Receção embalagens	F	Contaminação por corpos estranhos da embalagem primária (como pó, papel, alumínio)	1	1	1	Mau acondicionamento durante a armazenagem e /ou transporte	Código de Boas práticas Fornecedor. Fornecedores qualificados. Controlo à recepção para confirmação do acondicionamento por parte do fornecedor.
	Q	Contaminação por migração de componentes da embalagem	1	2	2	Má aplicação do revestimento da embalagem. Fornecedor não cumprir com a adequação dos materiais para contacto alimentar	Fornecedores qualificados. Testes de migração nas embalagens/ declarações de conformidade.
	B	Contaminação por Pragas (Mau estado de conservação)	1	2	2	Incumprimento das boas práticas pelo fornecedor.	Fornecedor Qualificado. Controlo à receção para confirmação do acondicionamento por parte do fornecedor.

Nas Tabelas 2 e 3 apresenta-se a análise de perigos para as diferentes etapas da produção da pasta de azeitona. Uma etapa define-se como qualquer ponto, procedimento, operação ou fase da cadeia alimentar, incluindo as matérias primas, desde a produção primária até ao consumidor final.

Como podemos observar na tabela 2, onde estão indicadas as medidas de controlo para possíveis perigos na receção de matérias-primas, a única medida que é efetuada na empresa é efetivamente o controlo visual da matéria fornecida. Além desta medida, as únicas formas de controlo são externas, nomeadamente: a escolha de fornecedores qualificados, declaração de conformidade de boas práticas agrícolas, controlo à receção para confirmação do acondicionamento por parte do fornecedor e/ou uso de produtos produzidos em módulo biológico. Antes de a matéria-prima começar a ser processada há ainda uma fase de lavagem que pode ser extremamente importante para remover possíveis corpos estranhos (como terra, pedras ou pó) ou até resíduos de produtos fitofarmacêuticos/ contaminantes.

Há possíveis fontes de contaminação como fungos/ pragas, devido a má conservação da matéria-prima, que podem não ser visíveis a olho nu. Poderia ser importante para a empresa estabelecer um método de análise das matérias-primas aquando da sua chegada para assegurar a máxima qualidade das mesmas.

Depois da receção das matérias-primas e embalagens, também é extremamente importante assegurar um armazenamento correto das mesmas. Na empresa, valoriza-se a higienização dos espaços de produção e armazenamento bem como a manutenção das embalagens fechadas que é uma medida de controlo essencial. Ainda assim algumas destas medidas de controlo podem ser otimizadas como a formação dos operadores, uma vez que é essencial formar regularmente todos os colaboradores da empresa para que conheçam as regras básicas de segurança e qualidade alimentar.

Nas etapas de Pesagem e Trituração também podem surgir perigos físicos como a contaminação por corpos estranhos (cabelos, resíduos de sementes/ caroços, desgaste do equipamento), perigos químicos como a contaminação por resíduos de produtos de higienização e contaminação por alergénios e, por fim, perigos biológicos nomeadamente o desenvolvimento de microrganismos/ contaminação microbiológica.

**Tabela 3:** Análise de perigos nas etapas de armazenamento de matérias-primas e armazenamento de embalagens para a pasta de azeitona.

Legenda: F - Físico; Q - Químico; B - Biológico; P – Probabilidade (0-10); S – Severidade (0-10); IR - Índice de Risco (IR= PxS)

Etapa	Perigo		Avaliação do Perigo			Causas	Medidas de controlo
			P	S	IR		
Armazenamento plantas aromáticas, frutos secos, especiarias	F	Contaminação por corpos estranhos (cabelos, insetos, resíduos embalagem)	2	1	2	Mau acondicionamento durante a armazenagem. Incumprimento das boas práticas de higiene pessoal.	Código de Boas práticas. Formação dos operadores. Segregação dos produtos não alimentares. Manutenção embalagens fechadas.
	Q	Contaminação por resíduos de produtos de higienização	1	2	2	Não cumprimento dos procedimentos de higienização.	Adequada higienização da área de armazenagem, com a segregação/ proteção do produto durante a operação de higienização.
	Q	Contaminação por alergénios	1	4	4	Mau acondicionamento durante a armazenagem.	Código de Boas práticas. Formação dos operadores. Segregação dos produtos que têm na sua composição alergénios. Manutenção embalagens fechadas.
	B	Contaminação por pragas	2	2	4	Mau acondicionamento durante a armazenagem. Incumprimento das boas práticas de higiene (controlo de pragas, manutenção dos espaços limpos e fechados).	Código de Boas práticas (controlo de pragas e manutenção higiene espaços de armazenagem). Formação dos operadores. Manutenção embalagens fechadas.
Armazenamento de embalagens primárias e secundárias	F	Contaminação por corpos estranhos (cabelos, insetos, resíduos embalagem)	2	1	2	Mau acondicionamento durante a armazenagem. Incumprimento das boas práticas de higiene pessoal.	Código de Boas práticas. Formação dos operadores. Segregação dos produtos não alimentares. Manutenção embalagens fechadas.
	Q	Contaminação por resíduos de produtos de higienização	1	2	2	Não cumprimento dos procedimentos de higienização.	Adequada higienização da área de armazenagem, com a segregação/ proteção do produto durante a operação de higienização.
	Q	Contaminação por alergénios	1	4	4	Mau acondicionamento durante a armazenagem.	Código de Boas práticas. Formação dos operadores. Segregação dos produtos que têm na sua composição alergénios. Manutenção embalagens fechadas.
	B	Contaminação por pragas	2	2	4	Mau acondicionamento durante a armazenagem. Incumprimento das boas práticas de higiene (controlo de pragas, manutenção dos espaços limpos e fechados).	Código de Boas práticas (controlo de pragas e manutenção higiene espaços de armazenagem). Formação dos operadores. Manutenção embalagens fechadas.

Na etapa de Enchimento e Cravação e também na etapa de Reprocessamento, podem surgir perigos físicos como a contaminação por corpos estranhos (cabelos, desgaste do equipamento) devido ao não cumprimento das regras de higiene e fabrico. Podem ainda surgir perigos químicos nomeadamente a contaminação por resíduos de produtos de higienização e contaminação por alergénios. Na etapa de Limpeza e Secagem podem surgir perigos biológicos como o desenvolvimento de microrganismos derivado de uma selagem não conforme. Também a deficiente separação do produto com selagem não conforme pode levar à ocorrência destes mesmos perigos biológicos na etapa de Rotulagem e Embalamento.

Ainda na etapa de Rotulagem e Embalamento podem surgir perigos químicos, pelo erro de rotulagem por troca de etiquetas, o que pode significar a não identificação ou errada identificação dos alergénios. Por fim nas etapas de armazenamento, expedição e transporte do produto final não foram identificados quaisquer tipos de perigos.

#### **1.2.2.1. Qualidade de Doces de Fruta, Cremes de Chocolate e Chutneys**

Aquando da produção, a qualidade dos produtos é controlada com recurso à avaliação de três parâmetros chave: o grau Brix, o pH e a temperatura. Estes são avaliados com recurso a um refratómetro *Hanna HI 9680*, um medidor de pH *Hanna Checker® Plus* e um termómetro de infravermelhos para a Indústria Alimentar *Hanna HI 99556-10*, como se pode ver na figura 5.

Para doces de fruta, cremes de chocolate e chutneys, antes de se avançar para o enchimento e selagem das bisnagas, é necessário avaliar se o produto está ou não conforme, assim, procede-se sempre à avaliação do pH, grau Brix e temperatura do produto. O grau Brix indica a percentagem de sólidos solúveis em água, em sumos de fruta, e pode ser afetado por diversos fatores incluindo a variedade, região de crescimento, ano de crescimento e nível de maturidade da fruta<sup>10</sup>. Nos doces de fruta, não só se avalia o grau Brix do produto final como também da fruta no seu estado natural. É desejável que o valor obtido, para um doce de fruta, esteja entre 50 e 65°Brix.

É também medido o valor de pH em todos estes produtos. A cor é uma importante característica de qualidade, que afeta a aceitação do produto por parte do consumidor e o pH tem um efeito importante nos pigmentos responsáveis pela cor da fruta e vegetais<sup>11</sup>. Durante o processamento de alimentos, o valor do pH afeta diversos fenómenos e processos como por exemplo atividade enzimática, gelificação, crescimento e mortalidade de microrganismos ou inativação de esporos bacterianos e reações químicas, como as reações de Maillard<sup>12</sup>. Assim, o conhecimento do valor de pH e o seu controle durante o processamento é essencial para produzir produtos seguros e de alta qualidade. É desejável



que o valor de pH esteja entre 2,9 e 3,9, à exceção dos cremes de chocolate onde o pH pode ter valores até 4,5.



Figura 5: Refratómetro, termómetro infravermelho e medidor de pH.

Em doces de fruta, cremes de chocolate e chutneys, o enchimento e selagem é feito com o produto quente (entre 85°C e 103°C), seguindo-se um rápido arrefecimento das bisnagas de modo a formar vácuo. Assim é importante controlar também a temperatura nos doces de fruta, chocolates e chutneys antes de se proceder ao embalamento destes produtos.

Além da medição destes parâmetros aquando da data de produção, há ainda um controlo posterior dos valores de pH e grau Brix, passadas pelo menos 24 horas, em amostras seleccionadas para tal.

#### 1.2.2.2 Qualidade de Pasta de Azeitona

Já na produção de pasta de azeitona, o único parâmetro controlado é o pH. O grau Brix, geralmente, não é avaliado nas pastas de azeitona uma vez que o grau de açúcares presente neste produto é muito reduzido, pode variar entre 37 e 45°Brix. Os açúcares presentes devem-se na pasta Negrinha do Douro ao mel adicionado e na pasta Galega com



figo, ao figo seco. A temperatura também não é controlada uma vez que as pastas de azeitona que são embaladas com processamento térmico mínimo (no máximo 40°C) uma vez que o azeite não deve ser submetido a temperaturas elevadas, como será abordado em mais detalhe no capítulo III. À semelhança do que acontece com os restantes produtos, há um controle durante a produção das pastas de azeitona, mas há também um controlo posterior do pH, passadas pelo menos 24 horas.

### **1.3 Objetivos de Trabalho**

#### **1.3.1 Conhecer realidade empresarial**

No âmbito da dissertação foram definidos inicialmente dois objetivos principais: 1) a análise e otimização da pasta de azeitona e 2) o desenvolvimento de novos produtos. Foi ainda definido que numa primeira fase seria importante acompanhar a produção de diferentes produtos para compreender todo este processo antes de iniciar o trabalho focado nestes dois objetivos. Desta forma, decidimos que uma primeira parte do estágio seria focada no acompanhamento do trabalho de dia-a-dia na empresa, desde a produção até à rotulagem e embalamento, com o objetivo de conhecer melhor a realidade empresarial.

#### **1.3.2 Análise e otimização da Pasta de Azeitona**

Percebemos que uma grande percentagem da Pasta de Azeitona, produzida na meia.dúzia®, acabava por ser desperdiçada por não aparentar estar em condições para ser comercializada. Uma parte das bisnagas, passado um mês da sua produção, começavam a opar o que poderia ser um indício de contaminação microbiológica, no entanto, esta contaminação nunca foi comprovada em laboratório.

Pensamos que uma das principais causas para este problema poderia ser o facto de as pastas de azeitona serem processadas a frio e não serem embaladas a vácuo, ao contrário dos doces de fruta, chocolates e chutneys. Esta questão pode levantar problemas no que toca à

segurança e qualidade do produto a longo prazo pelo que pode ser necessário ajustar o prazo de validade do produto ou ajustar o processamento ou formulação deste produto de forma a garantir a qualidade do produto final que chega ao consumidor.

Especialmente em bisnagas de pasta de azeitona Galega com figo, notou-se o surgimento de mais bisnagas opadas. A presença de açúcares nesta pasta, nomeadamente o figo seco, é, à partida, um fator facilitador para o crescimento bacteriano no produto. Para compreender melhor possíveis causas desta problemática será efetuada uma análise da Pasta de Azeitona.

Pensamos avaliar Brix e pH da pasta de azeitona em bisnagas opadas para perceber se existem diferenças nestes parâmetros quando comparados aos valores da pasta de azeitona conforme. Além desta avaliação, seria interessante conseguir mais informações sobre a composição destes produtos e como tal, decidimos seguir outra abordagem, a análise FTIR, nos laboratórios da Universidade de Aveiro. Optamos por esta análise especialmente porque é uma técnica económica, simples e rápida. Iremos então começar com uma análise FTIR comparando a composição de ambas as pastas de azeitona, Negrinha do Douro e Galega com Figo, e comparando bisnagas normais e bisnagas opadas de cada uma destas pastas. Idealmente, a par desta análise, também deveria ser feita uma análise microbiológica às bisnagas opadas (semelhante à que encontramos na tabela 6), num laboratório especializado, no entanto, esta análise já tem o custo associado mais elevado.

Depois da realização análise FTIR planeamos ainda testar, na empresa, um método de produção de pasta de azeitona diferente para tentar otimizar a mesma. Assim este trabalho tem como principal objetivo analisar a composição das pastas de azeitona e testar possíveis alterações ao processamento deste produto, de forma a encontrar uma solução para esta problemática sem comprometer a segurança e qualidade do produto final.

### **1.3.3 Desenvolvimento de novos produtos**

Este objetivo surge da necessidade de constante inovação que é fundamental para o crescimento da empresa, bem como da vontade de criar novos produtos que vão de encontro

com as atuais tendências de mercado. Planeamos testar, na empresa, diferentes sabores de doces de fruta, cremes de chocolate e chutneys.

Assim, uma parte do trabalho a ser desenvolvido na empresa passa pelas diferentes etapas do desenvolvimento de novos produtos alimentares, desde a geração de ideias, à análise de mercado e testes preliminares. Pretendemos ainda realizar, com a ajuda dos colaboradores da empresa, alguns testes de análise sensorial que nos permitirão prever qual será a aceitabilidade destes novos produtos no mercado.

## **II – CONHECER A REALIDADE EMPRESARIAL**

Ao longo do meu estágio desenvolvi várias atividades relacionadas com o dia-a-dia da empresa, nas quais pude contactar com a realidade da manufatura de compotas, cremes de chocolate, pastas e chutneys bem como todo o trabalho a esta associado desde a produção ao embalamento e rotulagem. A par dessas atividades, desenvolvi as formulações de novos produtos que compõem a base do meu trabalho.

### **2.1 Produção e embalamento**

#### **2.1.1 Produção de doces e chutneys**

Durante este estágio curricular foi acompanhada a produção de diversos produtos, conforme descrito na Tabela 4. Os parâmetros grau Brix e pH são uma forma de controlo de qualidade dos produtos. Estes parâmetros foram avaliados imediatamente após a produção, antes do embalamento, mas também passadas pelo menos 24 horas, de forma a garantir que o produto está conforme para ser comercializado. Assim, após a produção, algumas bisnagas são reservadas para mais tarde se realizar o controlo destes valores. Na Tabela 4 vemos os valores de pH e grau Brix obtidos no controlo de qualidade, passadas pelo menos 24 horas da produção, e estes encontram-se no intervalo de valores esperados. Para doces de fruta espera-se que o grau Brix se encontre entre 50 e 65° Brix, já o pH deseja-se que esteja entre 2,9 e 3,9, à exceção dos cremes de chocolate e chutneys onde pode ir até 4,5.

Tabela 4: Doces, chocolates e chutneys produzidos durante o período de estágio curricular da aluna.

Data de Produção	Produto	Controlo de parâmetros após produção	Intervalo de valores esperados
10/10/2018	Doce Extra de laranja com Vinho da Madeira (75g)	pH: 3,64 ° Brix: 57,9	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
16/10/2018 17/10/2018	Creme de chocolate negro “São Tomé” com morango e malagueta (75g)	pH: 3,93 e 3,96 ° Brix: 58,5 e 58,2	pH: 2,9-4,5 Brix: 50-65° Brix
17/10/2018	Doce Extra de morango, framboesa e hortelã (75g)	pH: 3,18 ° Brix: 56,0	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
19/10/2018 22/10/2018	Doce Extra de framboesa e lima com hortelã (75g)	pH: 3,15 e 3,08 ° Brix: 53,4 e 54,6	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
24/10/2018	Doce Extra de framboesa e groselha com lúcia-lima (75g)	pH: 3,59 ° Brix: 53,1	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
25/10/2018 26/10/2018	Doce de abóbora e laranja com mel de eucalipto e rosmaninho, canela e amêndoa (75g)	pH: 3,70 e 3,85 ° Brix: 60,7 e 60,2	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
30/10/2018	Doce de abóbora e laranja com mel de eucalipto e rosmaninho, canela e Vinho do Porto (75g)	pH: 3,63 ° Brix: 62,8	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
31/10/2018	Doce Extra de figo e laranja com Vinho do Porto (75g)	pH: 4,19 ° Brix: 59,3	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
02/11/2018	Doce Extra de figo e laranja com canela (75g)	pH: 4,10 ° Brix: 55,4	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
06/11/2018 08/11/2018	Chutney de Pimento Vermelho (75g)	pH: 4,59 e 4,31 ° Brix: 39,0	pH: 2,9-4,5 Brix: 30-40° Brix
12/11/2018	Chutney de Manga (75g)	pH: 3,23 ° Brix: 38,3 e 37,3	pH: 2,9-4,5 Brix: 30-40° Brix
27/11/2018 04/12/2018	Creme de chocolate branco com laranja (75g)	pH: 3,93 e 3,80 ° Brix: 57,6 e 70,8	pH: 2,9-4,5 Brix: 50-65° Brix
08/12/2018 10/12/2018	Doce Extra de morango com hortelã (200g)	pH: 3,30 e 3,33 ° Brix: 55,6 e 58,1	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
11/12/2018 12/12/2018	Doce Extra de maçã Bravo de Esmolfe com canela (75g)	pH: 3,45 e 3,33 ° Brix: 58,1 e 55,5	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
14/12/2018	Doce Extra de maçã Bravo de Esmolfe com canela (200g)	pH: 3,35 ° Brix: 56,8	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix
14/12/2018	Doce de abóbora e laranja com mel de eucalipto e rosmaninho, canela e amêndoa (200g)	pH: 4,00 ° Brix: 60,5	pH: 2,9-3,9 Brix: 50-65° Brix

A produção de doces de fruta ou chutneys inicia-se com a preparação dos respetivos frutos que pode incluir descascar e/ou descaroçar. Segue-se a cozedura dos frutos juntamente com o açúcar. No caso de os produtos incluírem ervas aromáticas ou especiarias as respetivas soluções também são adicionadas à fruta numa fase inicial. Após a cozedura, as frutas são trituradas e é-lhes adicionada pectina e, se necessário, ácido cítrico. Após esta fase de mistura

e homogeneização passa-se para a etapa de enchimento de selagem. A máquina envasadora de bisnagas metálicas, *Tonazzi Colibri Matic*, enche bisnagas com a quantidade correta (20g, 75g ou 200g) de compota ou chutney ainda quente (acima dos 80°C) e, de seguida, sela as mesmas. Por fim as bisnagas são rapidamente arrefecidas em água fria de modo a formarem vácuo. Há ainda uma limpeza e inspeção manual das bisnagas para garantir a sua qualidade antes de estas passarem para as etapas finais de embalagem, expedição e transporte.



Figura 6: A máquina envasadora de bisnagas metálicas, *Tonazzi Colibri Matic*.

Na formulação da maioria dos doces de fruta, cremes de chocolate e chutneys encontram-se dois aditivos alimentares essenciais que são a pectina e o ácido cítrico. A pectina é um ingrediente alimentar funcional de alto valor, amplamente utilizado como agente gelificante e estabilizador<sup>13</sup>. Devido às suas propriedades gelificantes é amplamente utilizada pela indústria de manufatura de compotas e produtos do mesmo género, e é considerada como um aditivo alimentar (E440)<sup>14</sup>. Atualmente a casca de citrinos e o bagaço de maçã são as principais fontes para extração de pectina<sup>13</sup>. O ácido cítrico é também um aditivo alimentar versátil e inócuo, considerado mundialmente como GRAS (generally regarded as safe)<sup>15</sup>. Este aditivo é amplamente utilizado na indústria alimentar e em produtos como compotas, geleias e preservantes tem como principais funções controlar o pH, atua

como acidulante e assim fornece o grau desejado de acidez e sabor e pode ainda aumentar a eficácia dos conservantes antimicrobianos<sup>16</sup>.

### 2.1.2 Produção de pasta de azeitona

Atualmente são produzidas duas variedades de pasta de azeitona, a Pasta de Azeitona “Negrinha do Douro” e a Pasta de azeitona Galega com Figo. Ambas as pastas são elaboradas até se obter uma pasta homogênea. Todas as etapas e processos, desde a receção das matérias-primas até à expedição e transporte do produto final, estão descritos no diagrama de fluxo de produção da Figura 9. Na etapa de Mistura, além da azeitona e de outras matérias-primas (frutos secos ou mel, especiarias, ervas aromáticas, azeite) há ainda a adição de aditivos alimentares.

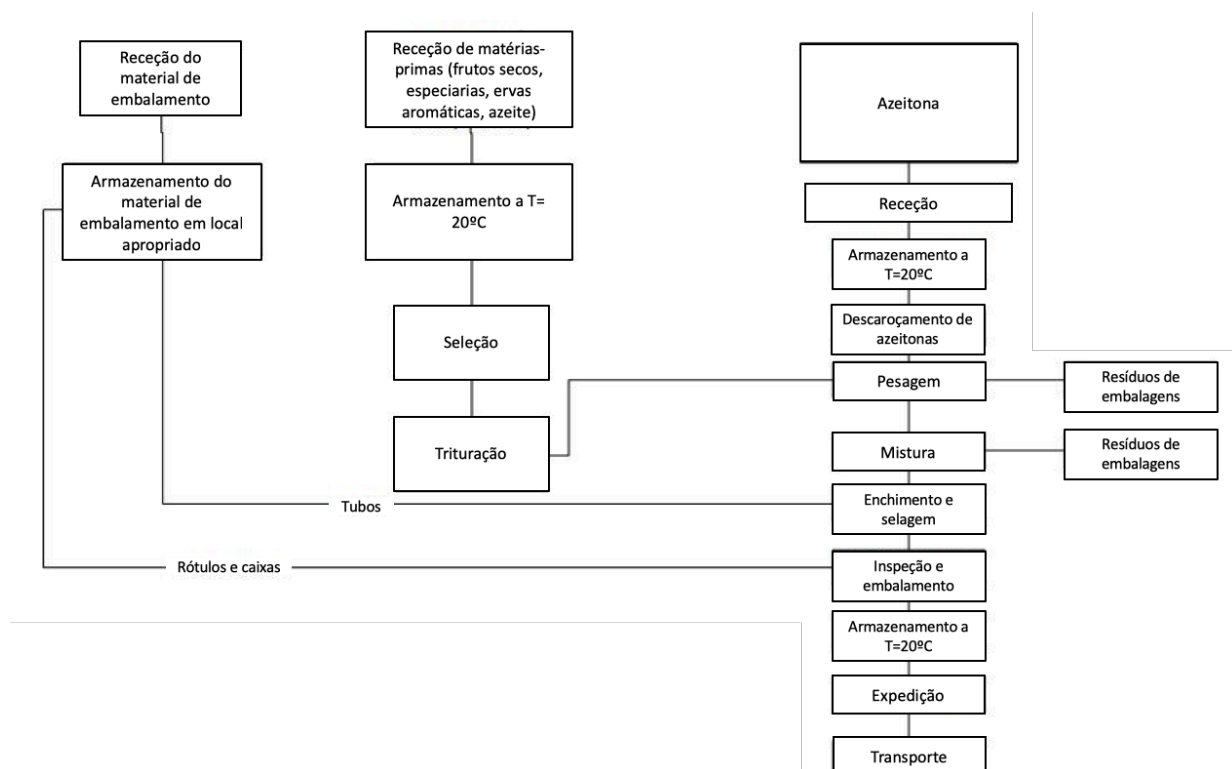


Figura 7: Diagrama de fluxo de produção da pasta de azeitona.

A Pasta de azeitona “Negrinha do Douro” é composta por: azeitona negrinha do Douro (81%), azeite virgem, mel, especiarias, regulador de acidez (ácido cítrico) e sal, enquanto que a Pasta de azeitona Galega com Figo é composta por: azeitona Galega (51%), figo (30%), azeite virgem, especiarias, ervas aromáticas, regulador de acidez (ácido cítrico) e sal. Na tabela 2 encontra-se uma comparação das principais características organoléticas, aspeto, cheiro, cor e sabor, para as duas pastas.

Tabela 5: Características organoléticas da Pasta de azeitona Negrinha do Douro e da Pasta de azeitona Galega com Figo

	Pasta de azeitona Negrinha do Douro	Pasta de azeitona Galega com Figo
<b>Aspeto</b>	Cremoso podendo conter pequenos pedaços de ervas aromáticas.	Cremoso podendo conter pequenos pedaços de figo.
<b>Cheiro</b>	Odor característico da azeitona.	Odor característico da azeitona.
<b>Cor</b>	Cor roxa.	Cor esverdeada.
<b>Sabor</b>	Sabor característico da azeitona com fresco aroma de ervas aromáticas.	Sabor característico da azeitona com travo doce do figo.

Atualmente, o período de validade definido para ambas as pastas é de 24 meses. O prazo de validade da azeitona, quando recebida, é reduzido (cerca de 1 ano), visto que a azeitona vem conservada apenas em salmoura (com cerca de 2% de sal), porém o mercado atual pede produtos de validade longa, assim pretende-se que os produtos tenham uma validade entre 18 e 24 meses. Esta é uma das razões que levam à necessidade de incluir aditivos alimentares na formulação das pastas de azeitona, ao contrário do que se verifica nos restantes produtos meia.dúzia®. Estes aditivos incluem um agente conservante, o sorbato de potássio (E202), um agente antioxidante, o ácido ascórbico (E300) e um regulador de acidez, o ácido cítrico (E330). O ácido cítrico, conforme mencionado anteriormente, é um aditivo alimentar amplamente utilizado na indústria alimentar e tem como principal função controlar o pH. Pode ser utilizado para modificar a acidez de diversos alimentos, incluindo frutos enlatados, geleias e compotas<sup>16</sup>. O ácido ascórbico, também é muito

utilizado na indústria alimentar, mas como antioxidante. Antioxidantes são substâncias que, quando presentes em alimentos em baixas concentrações, comparadas àquelas de um substrato oxidável, retardam ou previnem a oxidação do substrato<sup>17</sup>. Os fabricantes de alimentos utilizam antioxidantes para evitar a deterioração da qualidade dos produtos e manter seu valor nutricional. O ácido ascórbico funciona como vitamina C, aromatizante, e previne o acastanhamento enzimático de frutas e legumes<sup>16</sup>. Este composto pode reduzir ou prevenir a peroxidação lipídica induzida pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pode eliminar o radical peroxil e inibir a citotoxicidade induzida por oxidantes, e ainda, age sinergicamente com o tocoferol (presente na azeitona) para regenerar radicais tocoferil<sup>18</sup>

Tabela 6: Características microbiológicas da Pasta de azeitona Negrinha do Douro e da Pasta de azeitona Galega com Figo. NA – Não Aplicável. Valores aceitáveis adaptados de <sup>19</sup>.

	Pasta de azeitona Negrinha do Douro		Pasta de azeitona Galega com Figo		Valores guia (Aceitáveis) <sup>19</sup>
Parâmetros	V.M.A. <sup>1</sup>	Método	V.M.A. <sup>1</sup>	Método	
<b>Microorganismos a 30°C</b>	10 <sup>5</sup> ufc/g	ISO 4833-1:13	10 <sup>5</sup> ufc/g	ISO 4833-1:13	>10 <sup>4</sup> ≤ 10 <sup>6</sup>
<b>Coliformes totais</b>	10 ufc/g	NF V 08-050:09	10 ufc/g	NF V 08-050:09	>10 <sup>2</sup> ≤ 10 <sup>4</sup>
<b><i>E. coli</i></b>	10 ufc/g	ISO 16649-2:01	10 ufc/g	ISO 16649-2:01	>10 < 10 <sup>2</sup>
<b>Bolores e Leveduras</b>	10 <sup>2</sup> ufc/g	NF V 08-059:02	10 <sup>2</sup> ufc/g	NF V 08-059:02	≤ 10 <sup>2</sup>
<b><i>Staphylococcus Coagulase Positive</i></b>	10 ufc/g	ISO 6888-2:99	10 ufc/g	ISO 6888-2:99	NA
<b>Esporos de Clostrídios sulfito-redutores</b>	10 ufc/g	ISO 15213:03	10 ufc/g	ISO 15213:03	≥ 10 ≤ 10 <sup>3</sup>
<b><i>Salmonella</i></b>	Ausência em 25g	PAM 55.3	Ausência em 25g	PAM 55.3	Ausente em 25g



Por fim, o sorbato de potássio é um preservante antimicrobiano, muito utilizado em alimentos para evitar o crescimento de microrganismos nos mesmos, de modo a garantir a segurança e qualidade dos produtos<sup>20</sup>. Este aditivo previne o crescimento de um amplo espectro de fungos bem como bactérias, principalmente aeróbias estritas, e pode ainda atuar como aromatizante ou acidulante<sup>16</sup>. Estes três aditivos, em sinergia, auxiliam a prolongar o prazo de validade da pasta de azeitona sem comprometer a qualidade do produto. Na tabela 3 encontram-se as características microbiológicas das duas variedades de pasta de azeitona, expressas em unidades formadoras de colónias (ufc) por gramas, segundo uma análise efetuada aos produtos pelos laboratórios Silliker Portugal, S.A.. Os resultados encontram-se de acordo com as normas de segurança alimentar estabelecidas.

Na Tabela 7 vemos os momentos de produção de pasta de azeitona, assim como os valores de controlo de qualidade da mesma. Para a pasta de azeitona o único parâmetro de controlo de qualidade é o pH e este encontra-se dentro dos valores esperados, entre 2,9 e 3,9.

Tabela 7: Pastas de azeitona produzidas durante o período de estágio curricular da aluna.

Data de Produção	Produto	Controlo de parâmetros após produção	Intervalo de valores esperados
11/10/2018	Pasta de azeitona “Negrinha do Douro” (180g)	pH: 3,96	pH: 2,9-3,9
24/11/2018	Pasta de azeitona “Negrinha do Douro” (18g)	pH: 3,52	pH: 2,9-3,9

## 2.2 Outras atividades

Durante este estágio curricular também surgiram outras atividades menos ligadas à produção, mas relacionadas com o trabalho diário da empresa. Dessas atividades podemos destacar a rotulagem, enchimento de chás, licores e azeites e a montagem de packs e kits.

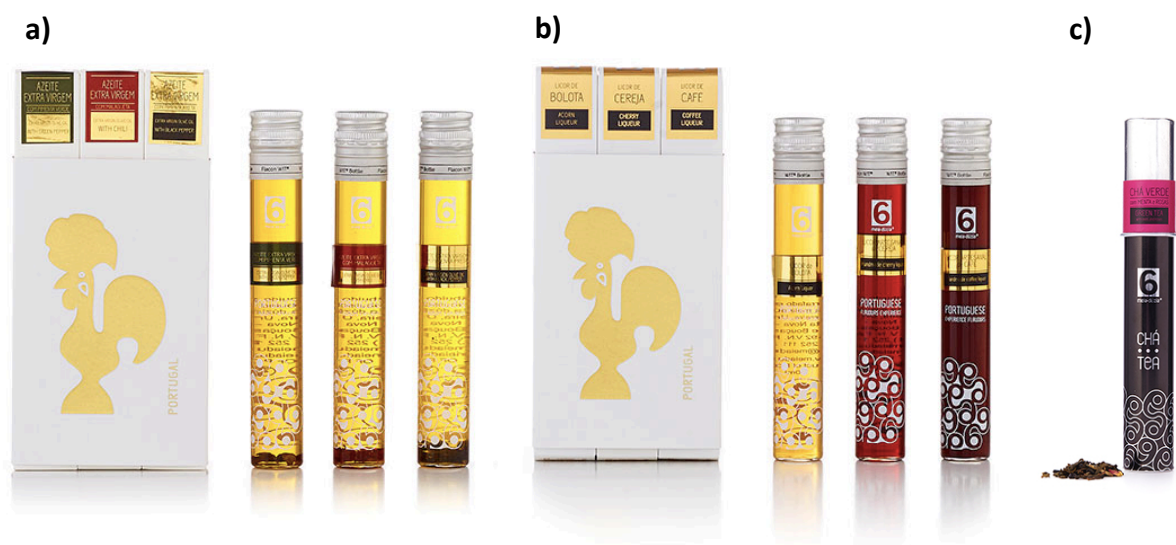


Figura 8: a) Pack 3 azeites contendo: Azeite extra virgem com pimenta verde (60ml), Azeite extra virgem com malagueta (60ml) e Azeite extra virgem com pimenta preta (60ml); b) Pack 3 licores contendo licor de ervas aromáticas (60ml), licor de morango (60ml) e licor de café (60ml); c) Chá verde com menta e rosas (20g).

No processo de enchimento de azeites começa-se por moer os grãos de pimenta verde e pimenta preta e triturar as malaguetas. Uma pequena quantidade destes condimentos é adicionada aos respetivos frascos de vidro bem como 60 ml de azeite extra virgem. Os frascos são fechados e as tampas seladas. Por fim é adicionado o devido rótulo ao frasco e faz-se o embalamento do mesmo. Assim ficamos com três variedades diferentes de azeite: o azeite extra virgem com pimenta verde, azeite extra virgem com malagueta e azeite extra virgem com pimenta preta. No enchimento de licores o processo é muito semelhante ao enchimento de azeites. Os frascos de vidro são preenchidos com 60 ml de licor, fechados e selados. Por fim adiciona-se o respetivo rótulo e o licor é embalado na respetiva caixa. Atualmente existem 11 variedades de licor: licor de cereja, licor de chocolate e leite, licor de noz, licor de figueira, licor de limão, licor de ervas aromáticas, licor de morango, licor de bolota, licor de café, licor de poejo e licor de tangerina.

Para além dos azeites e licores também era necessário proceder ao enchimento de chás. Pesam-se 20g de chá para os tubos que depois são fechados e devidamente rotulados. Existem 10 variedades de chá, nomeadamente: chá de rooibos com pedaços de chocolate e hortelã-pimenta, chá verde com menta e rosas, mistura de chás com frutos do bosque e pétalas de centáurea azul, chá verde com ananás, chá verde com jasmim, chá oolong com

flor de laranjeira, chá preto com maracujá, chá preto com pêssego, chá preto com maçã verde e chá verde com citrinos.

O trabalho regular da empresa também incluiu, sempre que necessário, a montagem de packs (de 3 ou de 6 produtos), montagem de cabazes, boxes de harmonização (contendo queijo de vaca e uma bisnaga de doce de fruta 200g ou azeite extra virgem com pimenta verde junto com pasta de azeitona galega com figo (180g)), Box chef em casa (1ª edição e 2ª edição) e travel kits contendo 6 bisnagas de 20g diferentes.

Todos estes produtos eram devidamente embalados em caixas de expedição para seguirem para clientes via encomenda online ou para seguirem para as lojas físicas da marca.

### **III – ANÁLISE E OTIMIZAÇÃO DA PASTA DE AZEITONA**

#### **3.1 Pasta de Azeitona**

Além da formulação dos produtos e da utilização de aditivos alimentares, é ainda importante ter em conta o processamento em produtos alimentares. Na pasta de azeitona, o processamento térmico é insuficiente, especialmente porque o azeite não deve ser submetido a elevadas temperaturas. Na etapa de trituração das azeitonas a temperatura da pasta de azeitona pode aumentar (13-15 °C) porque uma parte da energia cinética dos trituradores mecânicos, que giram a alta velocidade, é transformada em energia térmica por fricção<sup>21</sup>. No entanto, se a temperatura da pasta de azeitona for superior a 50-60 °C, algumas substâncias tais como ceras, álcoois alifáticos e di-álcoois triterpénicos, podem tornar-se mais solúveis na fase oleosa, aumentando assim a sua concentração no azeite e, por consequência, excedendo os valores limite estabelecidos por lei<sup>22</sup>. Assim, enquanto por um lado poderia ser importante submeter a pasta de azeitona a um processamento térmico para garantir a segurança microbiológica e eliminar algumas atividades enzimáticas que reduzem a conservação de alimentos<sup>23</sup>, por outro lado o azeite não pode ser submetido a temperaturas elevadas. Desta forma, é importante encontrar um compromisso entre a formulação e

processamento da pasta de azeitona de modo a que este produto tenha uma validade prolongada sem que esta represente algum tipo de perigo para o consumidor final.

### 3.2 FTIR

FTIR, ou espectroscopia de infravermelhos por transformada de Fourier, é um método físico-químico que envolve a interação de radiação eletromagnética infravermelha (IV) com uma dada amostra<sup>24</sup>. À medida que a radiação IV passa por uma amostra, devido às transições entre níveis de energia, comprimentos de onda específicos são absorvidos provocando vibrações nas ligações químicas da amostra<sup>25</sup>. Esta é uma técnica simples, rápida e precisa com diversas aplicações na indústria alimentar<sup>26</sup>.

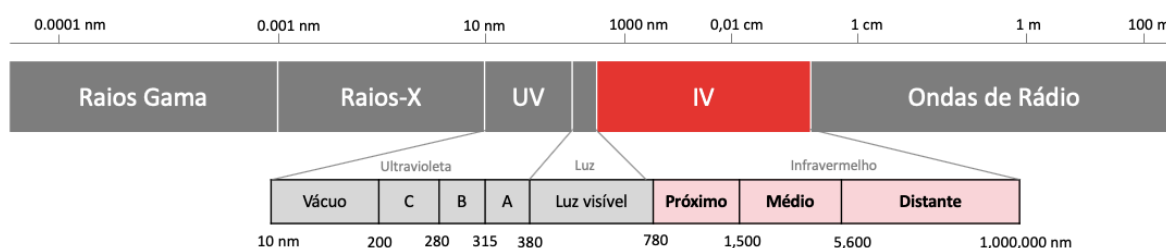


Figura 9: Representação do espectro eletromagnético, destacando a radiação infravermelha.

Espetrómetros FTIR utilizam um sistema de espelhos móveis e interferometria para gerar espectros de infravermelho e podem ter uma resolução de  $1 \text{ cm}^{-1}$ <sup>27</sup>. Quanto mais resolução, mais tempo demora a obtenção do espectro, e melhor conseguimos distinguir as bandas do espectro. Quando a radiação IV (Figura 6) é passada através de uma amostra, que está em constante vibração, comprimentos de onda específicos são absorvidos. Grupos funcionais presentes numa molécula tendem a absorver a radiação IV numa determinada faixa de comprimento de onda característica, como podemos observar na Figura 10<sup>28</sup>. Assim, a interpretação das diferentes bandas no espectro de absorção pode fornecer interpretações e descobertas perspicazes baseadas em grupos de componentes específicos da amostra<sup>27</sup>.

FTIR apresenta uma série de vantagens, comparativamente a outros métodos de análise, nomeadamente: é simples e fácil de utilizar, requer mínima ou nenhuma preparação para obtenção do espectro; é um método simples que requer muito pouca quantidade de amostra; é um método universal que pode ser utilizado em análises de rotina; pode ser uma análise

quantitativa e qualitativa; e é um método relativamente barato<sup>25</sup>. Algumas destas vantagens só se verificam uma vez que utilizamos a FTIR juntamente com ATR (*Attenuated Total Reflectance*), uma ferramenta analítica que permite a investigação direta da composição química de superfícies de diversos materiais<sup>29</sup>. ATR é uma técnica usada em espectroscopia de infravermelhos que utiliza o fenómeno da reflexão interna total. Consiste em refletir a radiação incidente num cristal de elevado índice refrativo onde a amostra é posicionada, e à medida que parte da radiação é absorvida pela amostra, a radiação vai perdendo energia. A resultante radiação atenuada é medida dando origem ao espectro de absorção característico da amostra<sup>24</sup>. Com ATR, a análise pode ser efetuada praticamente sem preparação prévia da amostra o que torna esta técnica bastante mais simples e rápida<sup>30</sup>.

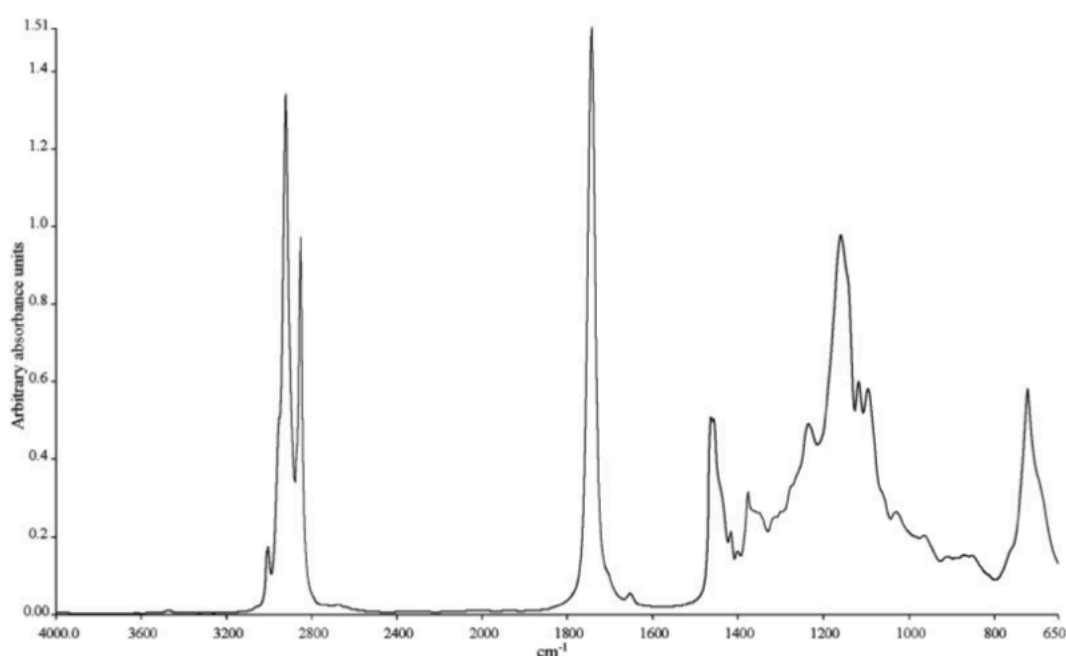


Figura 10: Exemplo de um espectro de azeite na região 2875.5-675 cm<sup>-1</sup>. Retirado de<sup>28</sup>.

No entanto, a FTIR também apresenta desvantagens, amostras complexas podem produzir espectros com sobreposição de bandas, o que pode dificultar a interpretação dos resultados. A presença de água numa amostra também pode dificultar a interpretação do espectro. A água é conhecida por ser extremamente absorvente, com uma capacidade de absorção molar de 104.4M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> na faixa dos 3 μm<sup>31</sup>. Esta característica das moléculas de H<sub>2</sub>O leva, geralmente, à saturação do sinal e consequentemente a região do espectro entre 2800 cm<sup>-1</sup> e 3700 cm<sup>-1</sup> fica desprovida de informação relevante. Mais uma vez, a ATR pode

mostrar-se extremamente importante aqui uma vez que esta técnica é ideal para amostras com elevado poder de absorção, devido ao fenómeno da reflexão interna total<sup>31</sup>.

Métodos tradicionais como métodos bioquímicos ou métodos imunológicos têm várias etapas e pode demorar muito tempo até se obter resultados confirmados, enquanto que a análise FTIR pode demorar apenas alguns minutos e é uma alternativa económica, pelo que tem vindo a ganhar importância na indústria da microbiologia alimentar<sup>25</sup>. A espectroscopia FTIR também já tem vindo a ser utilizada para estudar diferentes atributos qualitativos de alimentos como frutos e legumes, por exemplo, análise de extratos polissacarídicos da parede celular da polpa de azeitona<sup>32</sup>, quantificação de açúcares em sumo de manga<sup>33</sup>, determinação de açúcares e ácidos orgânicos em alperces<sup>26</sup>, avaliação da qualidade da cera na superfície da maçã<sup>27</sup>, entre outros. Num estudo publicado em 2003 verificou-se que é possível distinguir azeites virgem extra com origem geográfica diferente através de uma análise com FTIR<sup>34</sup>. Esta distinção pode ser extremamente importante na indústria alimentar e pode até ajudar a detetar possíveis fraudes alimentares. Fraudes alimentares podem surgir de diversas formas, alguns exemplos são precisamente os produtos cuja origem geográfica não corresponde à indicada no rótulo ou até formulações que são adulteradas com propósito comercial. Em 2017, uma análise ATR-FTIR também serviu como evidência para identificar uma fraude alimentar uma vez que melaço de romã era adulterado com xarope de tâmaras e ácido cítrico, por motivos económicos<sup>35</sup>.

Para este estudo era importante conseguir distinguir as duas variedades de pasta de azeitona produzidas na empresa, bem como analisar a composição de bisnagas opadas, com possíveis contaminações microbiológicas. Dado o equipamento muito limitado disponível na empresa, decidimos conduzir uma análise FTIR nos laboratórios de química da Universidade de Aveiro, por todas as vantagens já mencionadas, especialmente tendo em conta que FTIR com ATR é um método simples, rápido e económico.

### 3.2.1 Análise multivariada: princípios e ferramentas

A análise multivariada (MVA) aplica métodos não supervisionados e métodos supervisionados para interpretar os espectros obtidos numa série de medidas experimentais. Técnicas de MVA não supervisionada, como PCA, são usadas para reduzir a complexidade de dados de uma forma racional e também produz gráficos que podem ser interpretados pelo olho humano. Métodos supervisionados, como PLS e OPLS, utilizam a informação de um dado grupo de treino para criar um modelo matemático e assim otimizar a separação de dois ou mais conjuntos de dados<sup>36</sup>.

A **PCA** (*Principal Component Analysis*), geralmente, fornece resultados fiáveis, mesmo que o número de variáveis (número de pontos espectrais) exceda o número de observações (amostras). Uma tabela de dados bidimensional, chamada matriz  $X$ , pode ser construída contendo  $N$  observações num espaço dimensional  $K$ . A variação numa tabela de dados é aproximada por um plano de modelo de baixa dimensão que aproxima todas as linhas (por exemplo, observações) em  $X$  e é representada por pontos na Figura 8. A variação na matriz de dados  $X$  é descrita por uma matriz de *scores*, uma matriz de *loadings*  $P$  e uma matriz residual ( $E$ ), de modo que  $X = TP^t + E = t_1p_1^t + t_2p_2^t + E$ . O primeiro componente PCA ( $t_1p_1^t$ ) contém a maior variação nos pontos. O segundo componente PCA ( $t_2p_2^t$ ) é ortogonal ao primeiro e contém a maior variação seguinte e por aí em diante. O gráfico de *scores* ( $t_1$  e  $t_2$ ) na figura 8 representa a relação entre as observações no plano do modelo e fornece uma visão geral de todas as observações na tabela de dados. Assim, agrupamentos, tendências e *outliers* tornam-se visíveis<sup>37</sup>.

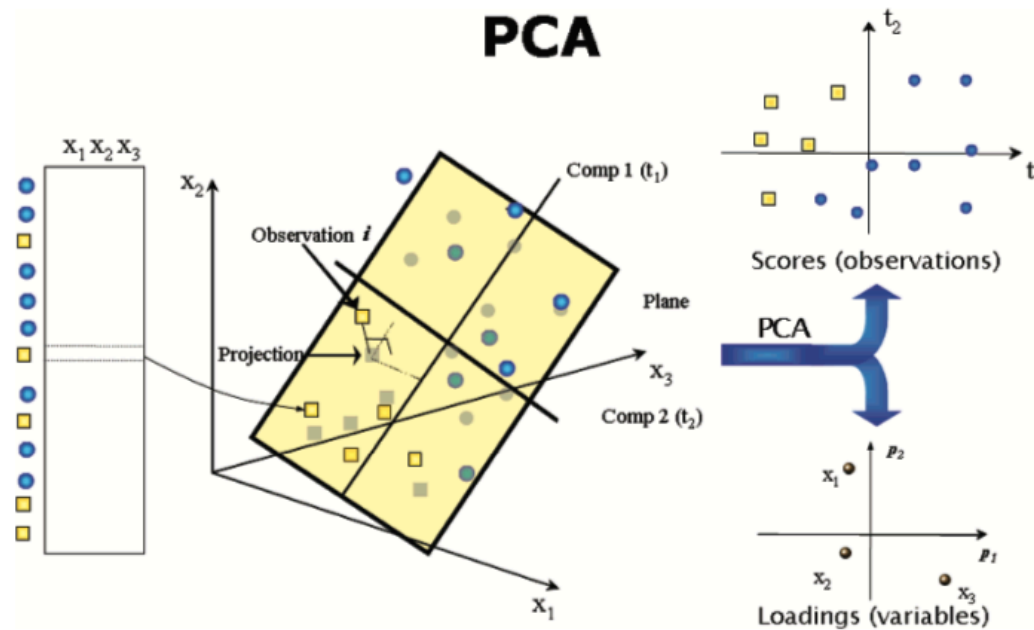


Figura 11: Ilustração do modelo PCA. Retirado de<sup>37</sup>.

Métodos de regressão multivariada como **PLS** (*Partial Least Squares*) têm elevada popularidade em diversas áreas. Enquanto que PCA é um método que considera apenas a estrutura de uma matriz  $X$ , o PLS constrói uma série de vetores latentes ortogonais de uma matriz  $X$  (variáveis independentes) que maximiza a covariância entre esses vetores e a matriz  $Y$  (variáveis dependentes). PLS decompõe as variáveis  $X$  e variáveis  $Y$  da matriz de zero significado na forma  $X=TP^T+E$  e  $Y=UQ^T+F$ , onde o  $T, U$  são matrizes de vetores de *scores* de  $p, P, Q$  representam as matrizes dos *loadings* e  $E, F$  representam as matrizes residuais<sup>37</sup>.

O método **OPLS** (*Orthogonal Partial Least Squares*) é frequentemente aplicado com o objetivo de melhorar a interpretação dos modelos PLS e reduzir a complexidade do modelo. OPLS remove a variação sistemática em  $X$  que é ortogonal a  $Y$ . Assim sendo, uma das principais vantagens de OPLS são modelos mais fáceis de compreender. Comparando com a representação de  $X$  no modelo PLS, o OPLS utiliza informação em resposta à matriz  $Y$  para mais tarde decompor a matriz  $X$  em três estruturas distintas:  $X=T_pP_p^T + T_0P_0^T + E$ , onde  $T_pP_p^T$  contém covariância sistemática e estruturas de correlação a  $Y$ ,  $T_0P_0^T$  contém variação sistemática  $Y$ -ortogonal e a matriz residual  $E$  contém a restante variação não-modelada. Como se pode verificar na figura 9, os componentes PLS não separam a variação entre diferentes classes da variação dentro de cada classe, e os resultantes PLS *loadings* misturam ambos os tipos de variação. O componente 1 ( $t_{1p}$ ) do modelo OPLS é a componente preditiva e mostra a variação das amostras entre classes (círculos e quadrados).



O correspondente perfil de *loadings* pode ser usado para identificar variáveis importantes para a separação da classe. O componente 2 ( $t_{20}$ ) é o componente *Y*-ortogonal e modela a variação dentro do grupo<sup>37</sup>.

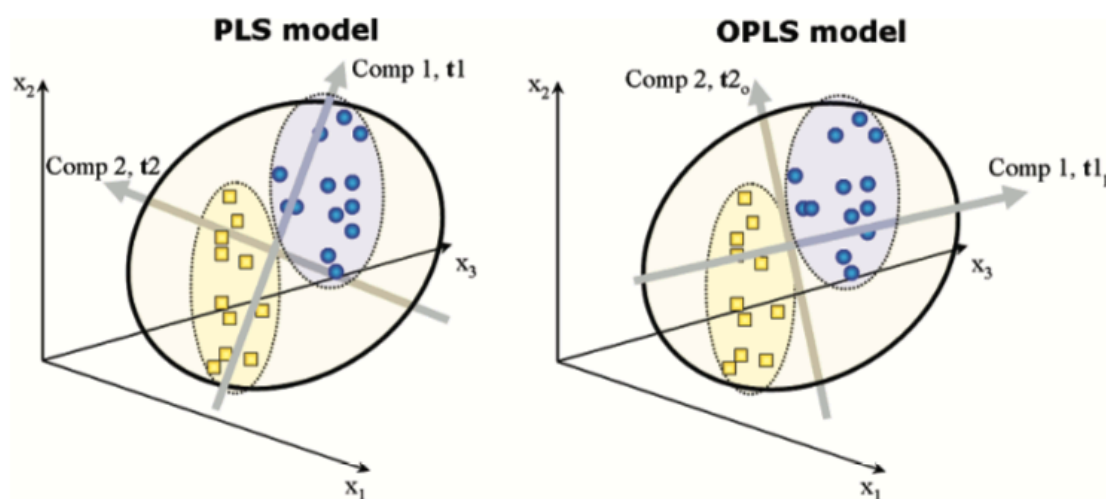


Figura 12: Ilustração dos modelos PLS e OPLS. Retirado de<sup>37</sup>.

Métodos baseados em projeções são sensíveis ao *scaling* das variáveis. Métodos de *scaling* de variáveis alteram o comprimento de cada eixo no espaço K-dimensional, com o principal objetivo de reduzir o ruído nos dados e assim otimizar o conteúdo e a qualidade da informação<sup>37</sup>. Nesta análise serão utilizados três métodos de *scaling* diferentes: centred, pareto e uv. UV (*unit variance*) significa que a variável está centralizada e escalada a partir do desvio-padrão da variável. A combinação de *scaling* e centralização automática é chamado de *autoscaling* e cada descritor (com alta ou baixa intensidade) é ponderado igualmente. No pareto, que é semelhante, a variância muda de variável para variável, mas o intervalo de variação em cada espectro é muito reduzido a partir dos dados iniciais (*unscaled*) - valores fracos são escalados para cima enquanto que valores com maior intensidade são escalados para baixo<sup>38</sup>.

Neste trabalho, será conduzida uma análise FTIR comparativa, de modo a tentar detetar diferenças na composição de 4 amostras diferentes. Iremos tentar diferenciar as duas variedades de pasta de azeitona, nomeadamente a pasta Negrinha do Douro e a pasta Galega

com figo e para cada uma destas iremos analisar uma bisnaga conforme e uma bisnaga não-conforme (opada). Esperamos com esta análise conseguir perceber qual a origem da contaminação microbiológica nas bisnagas opadas.

### 3.3 Análise da Pasta de Azeitona por FTIR

Analisando as duas variedades de pasta de azeitona, Galega e Negrinha do Douro, recorrendo aos equipamentos disponíveis na empresa, percebemos que os valores de pH e grau Brix estão dentro do intervalo de valores esperados e não há diferenças entre bisnagas opadas e bisnagas conformes. Assim avançamos com a análise das amostras de pasta de azeitona, produzidas na meia.dúzia®, nos laboratórios da Universidade de Aveiro, enriquecendo o estágio com uma componente laboratorial.

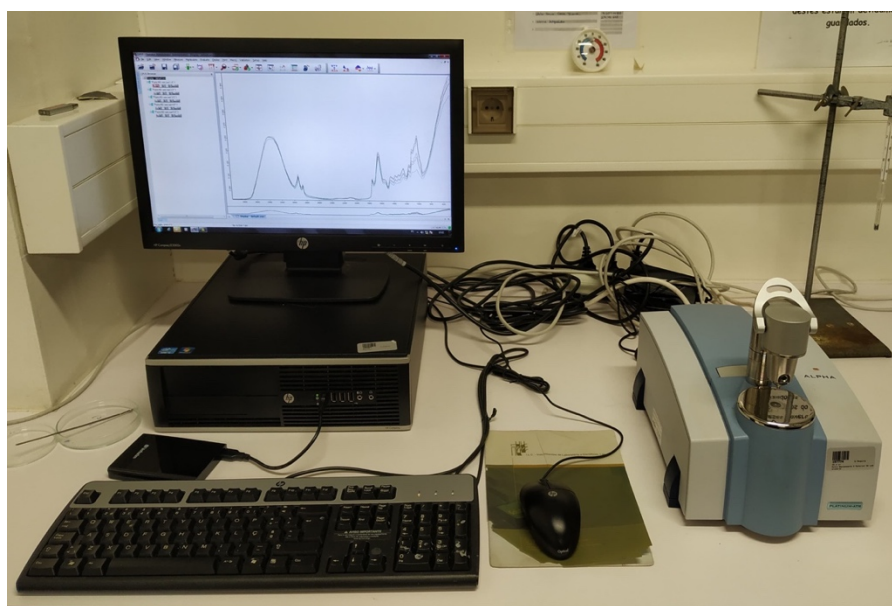


Figura 13: Espectrómetro FT-IR ALPHA II (Bruker), nos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

#### 3.2.1 Materiais e Métodos

As amostras de pasta de azeitona foram disponibilizadas pela meia.dúzia® em Janeiro de 2019 e foram divididas em quatro grupos distintos:

Grupo A - Pasta de Azeitona Galega com Figo (produto conforme)

Grupo B - Pasta de Azeitona Galega com Figo (bisnagas opadas)

Grupo C – Pasta de Azeitona Negrinha do Douro (produto conforme)

Grupo D - Pasta de Azeitona Negrinha do Douro (bisnagas opadas)

Para garantir a uniformidade dos resultados, as amostras de pasta de azeitona foram homogenizadas com recurso a um homogeneizador mecânico disponibilizado pelos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Para cada grupo de amostras efetuaram-se 15 réplicas que foram analisadas no Espectrómetro FT-IR ALPHA II (Bruker), também disponibilizado pelos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Os parâmetros de medição definidos foram: resolução= 8, número de scans=128 e alcance= 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ .

Os resultados foram analisados com recurso ao software R studio. Os espetros (obtidos em formato OPUS) foram analisados com *scripts in-house* e com o *script* roppls. A PCA (*Principal Component Analysis*) foi usada para detetar outliers e para detetar a presença provável de diferentes grupos. PLS (*Partial Least Squares Regression*) foi utilizado para retirar informações dos espetros. Foi ainda realizada a análise OPLS (*Orthogonal Partial Least Squares Regression*) para forçar a visualização da separação dos grupos.

### 3.2.2 Resultados e Discussão

Começamos a análise das amostras com a normalização dos dados usando a área total. Para garantir que conseguíamos os melhores resultados possíveis analisamos o espectro completo (500-4000  $\text{cm}^{-1}$ ), mas também o espectro sem a linha de base (900-4000) e o espectro sem a linha de base e sem o pico da água (900-3000). Os contributos da linha de base para a análise são muito variáveis mas, muitas vezes, esta inclui sinais residuais de água e lípidos, contribuições de macromoléculas e sobreposições de metabolitos presentes em baixas concentrações<sup>39</sup>, como tal, decidimos testar a análise dos espectros com e sem esta parte inicial (500-900  $\text{cm}^{-1}$ ). Também com vista a encontrar a melhor forma possível de analisar os dados, decidimos testar retirar a banda da água (3000-4000  $\text{cm}^{-1}$ ).

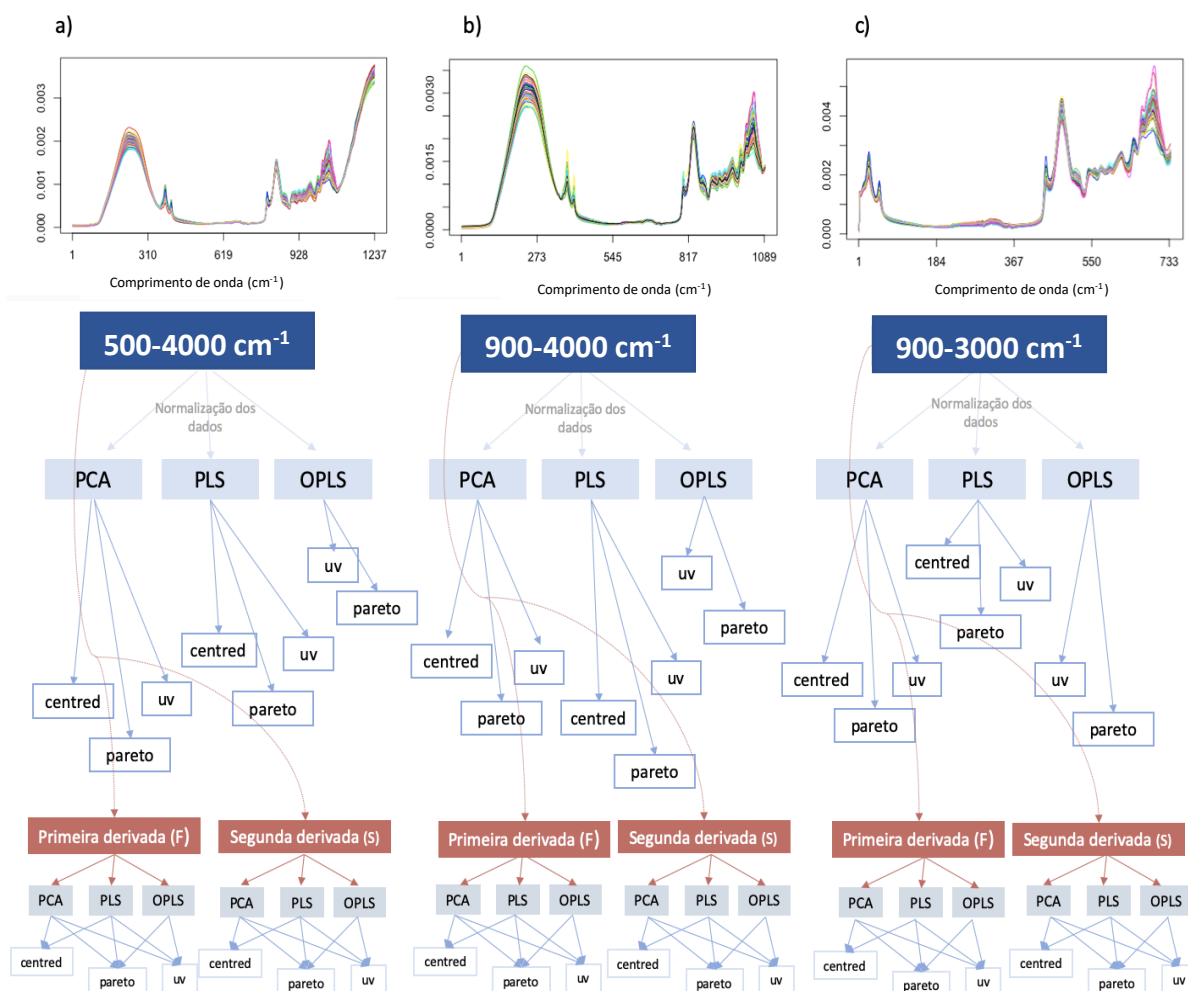


Figura 14: Esquema das diferentes análises realizadas: a) espectro completo (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ); b) espectro sem linha de base (4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ); c) espectro sem linha de base e sem pico de água (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ).

Este sinal pode dificultar a interpretação das bandas do espectro, uma vez que a água é uma molécula extremamente absorvente, o que pode levar à saturação do sinal nessa região do espectro.

Com o software R, utilizamos três modelos estatísticos diferentes, o PCA (*Principal Component Analysis*), PLS (*Partial Least Squares*) e OPLS (*Orthogonal Partial Least Squares*). Para cada um destes testaram-se três métodos de *scaling*: centred, pareto e uv.

Em primeiro lugar realizou-se uma análise centred PCA para identificar os outliers e retirá-los da análise. Como podemos ver na figura 15, os outliers para o espectro sem a linha de base ( $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ ) eram as amostras B4, C6 e C12. Olhando para o espectro, a amostra C6 apresenta um pico na zona dos  $1700\text{ cm}^{-1}$  muito mais elevado do que os restantes amostras. Na linha de base as amostras B4 e C12 apresentam valores mais baixos enquanto que na região  $1460\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  apresentam valores mais altos do que a média.

Por fim, a amostra B4 apresenta ainda um valor muito baixo na região do pico da água ( $4000\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ ).

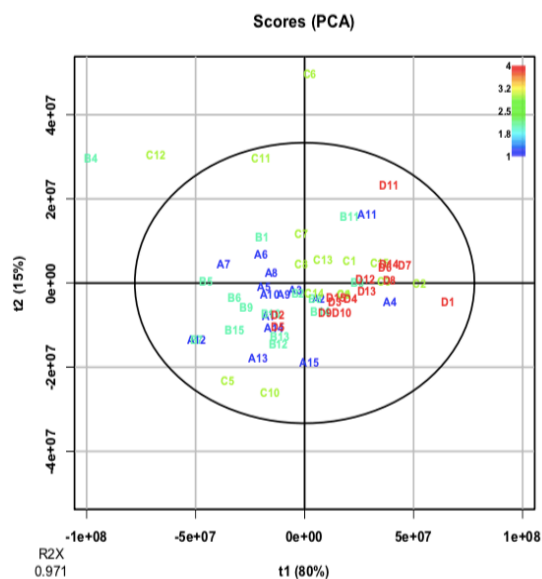


Figura 15: Output *scores* centred PCA; espectro sem linha de base ( $4000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ).

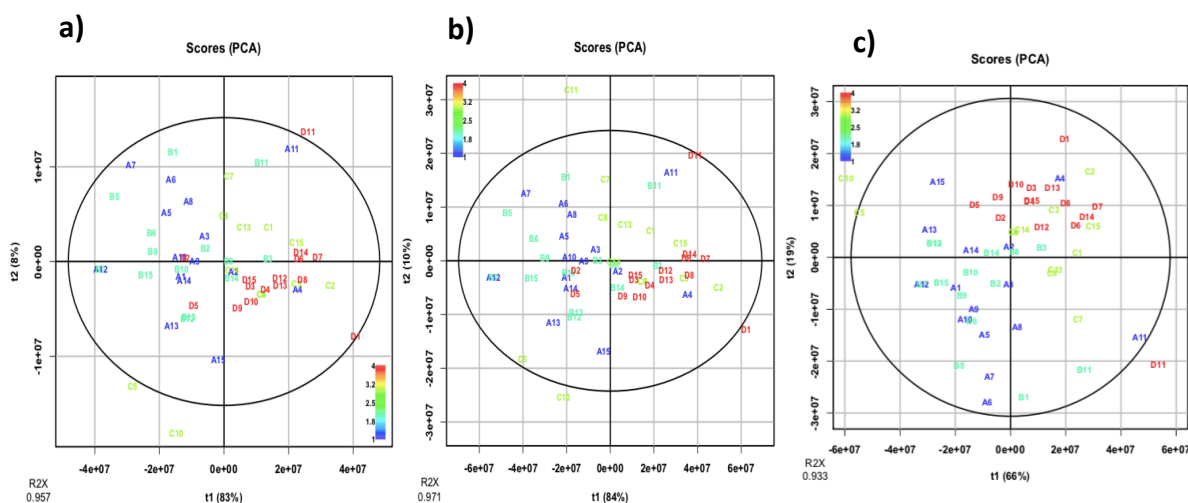


Figura 16: *Scores* centred PCA a) Espetro completo; b) Espetro sem linha de base; c) Espetro sem linha de base e sem pico de água.

Depois de remover os outliers, fez-se uma análise centred PCA, pareto PCA e uv PCA tanto para o espectro completo ( $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ ) como para o espectro sem linha de base ( $4000\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ ) e espectro só com meio ( $3000\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ ). Em qualquer dos casos, notamos que não foi possível distinguir os diferentes grupos de amostras. É possível identificar uma tendência para separar os grupos A e B (Pasta de Azeitona Galega com Figo) dos grupos C e D (Pasta de Azeitona Negrinha do Douro), no entanto, não é uma separação óbvia, portanto continuamos a análise com o modelo PLS.

Quando passamos para a análise PLS começa a notar-se uma distinção entre os grupos AB e os grupos DC, ou seja, entre as duas variedades de pasta de azeitona (Figura 17). Olhando para o respetivo gráfico de *Loadings* percebemos que as principais diferenças se encontram na região  $3300\text{ cm}^{-1}$ ,  $3000\text{ cm}^{-1}$  e na região  $1010\text{ cm}^{-1}$ . As amostras da zona positiva do gráfico 17 a) têm mais compostos com ligações O-H ( $3400\text{ cm}^{-1}$ , água) e com ligações amida ( $1650\text{ cm}^{-1}$ , proteínas) comparando com as amostras do lado esquerdo, olhando para a linha p1 na Figura 17 b).

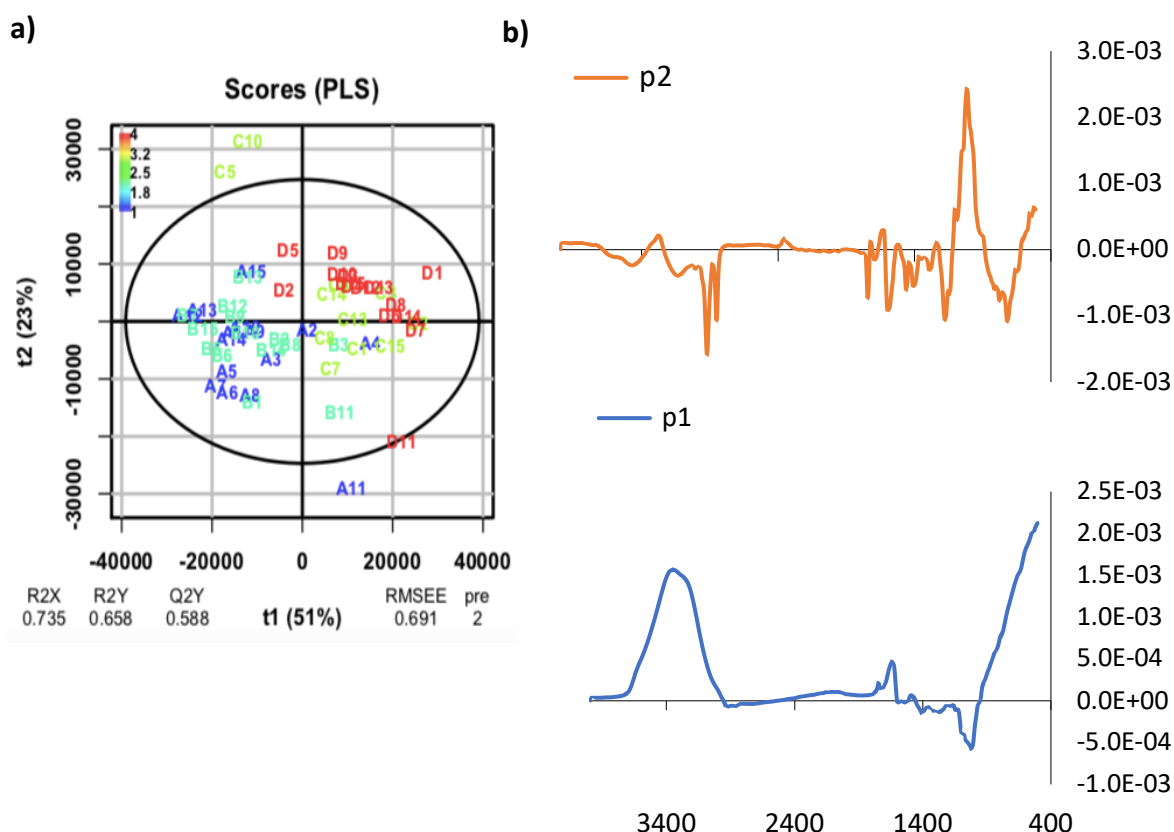


Figura 17: Espectro  $3000\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ : a) Scores pareto PLS; b) Loadings pareto PLS.

A linha p2 na Figura 17 b) indica que as amostras do primeiro e segundo quadrante da 17 a) têm mais compostos com ligações C-C/C-O ( $1010\text{ cm}^{-1}$ , açúcares) e menos com ligações C-H ( $2900\text{ cm}^{-1}$ , ácidos gordos).

Tabela 8: Regiões dos espectros FTIR escolhidas para análise. Adaptado de<sup>24</sup>.

Região do espectro ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
3110-2800	Ácidos gordos
1800-900	Mistura de biomoléculas
1800-1475	Amida I e amida II de proteínas
1200-900	Glucose, lactato, glicerol

Mesmo com o modelo OPLS, que força a separação, continuamos apenas a conseguir separar os grupo A e B dos grupos C e D, não conseguimos separar o grupo A do grupo B, nem o grupo C do grupo D, ou seja, não há uma separação nítida de bisnagas opadas em relação a bisnagas normais, como podemos ver na Figura 18 a). Com gráfico de *Loadings* (Figura 18 b)), à semelhança do que acontece na Figura 17 b), percebemos que as amostras da zona positiva do gráfico 18 a ) (C e D - Pasta de Azeitona Negrinha do Douro) têm mais compostos com ligações O-H ( $3400\text{ cm}^{-1}$ , água) e com mais ligações amida I ( $1650\text{ cm}^{-1}$ , proteínas) comparando com as amostras da zona negativa (A e B - Pasta de Galega com Figo).

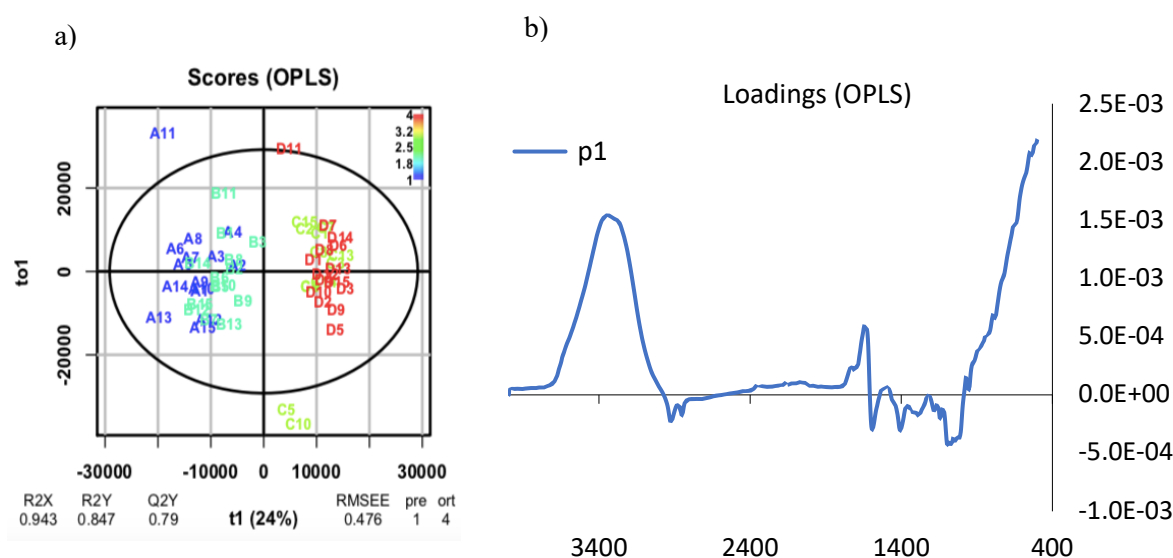


Figura 18: Espectro  $3000-900\text{ cm}^{-1}$ : a) *Scores* pareto OPLS; b) *Loadings* pareto OPLS.

Realizou-se ainda uma análise comparando apenas os grupos A e B entre si e, por outro lado, comparando apenas os grupos C e D. Olhando para os grupos A e B, não conseguimos distingui-los nem na análise PCA, nem com o modelo PLS. Por outro lado, analisando apenas os grupos C e D, não notamos uma distinção com a análise PCA, mas, com o modelo PLS, nota-se uma tendência para separação destes dois grupos, apesar de não ser uma separação evidente, como se pode verificar na Figura 19 b).

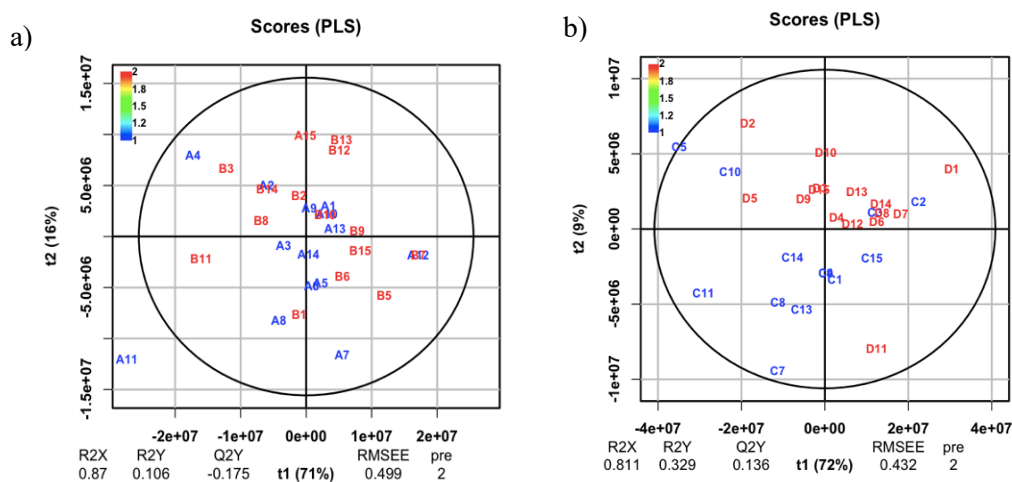


Figura 19: espectro completo ( $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ ), *Scores* centred PLS: a) grupos A e B; b) grupos C e D

Uma vez que não conseguimos notar uma clara distinção entre todos os grupos de amostras, decidimos prosseguir com a análise, derivatizando os dados. Tínhamos apenas uma matriz de dados, os espectros de absorção, mas passamos a ter mais duas: os espectros de absorção da primeira derivada e os espectros de absorção da segunda derivada. O objetivo de considerar as funções derivadas dos espectros é minimizar as diferenças de intensidade nos espectros, para maximizar as variações entre as diferentes classes. Desta forma, variações entre os grupos que poderiam ser indetetáveis em espectros normais de absorção podem ser detetadas com recurso a esta técnica de manipulação<sup>24</sup>. No entanto, apesar de esta técnica ser muito útil na interpretação dos dados, é importante considerar que, especialmente na segunda derivada, a percentagem de ruído é muito elevada. Como se pode observar no esquema da Figura 14, voltamos a realizar todas as análises feitas à matriz de espectros de absorção, mas desta vez, com a primeira derivada e a segunda derivada dos espectros. Os resultados mostraram-se idênticos quando analisamos o espectro completo, o espectro sem a linha de base



e o espectro sem linha de base e sem o pico da água, e como tal decidimos focar-nos apenas nos resultados do espectro sem linha de base e sem pico da água ( $3000-900\text{ cm}^{-1}$ ).

Como podemos ver na Figura 20, com a análise PCA conseguimos notar mais alguma separação entre os grupos, comparativamente aos dados não derivatizados (Figura 16). Ainda assim continua a não ser possível distinguir os quatro grupos de amostras e, como tal, avançamos com a análise utilizando os modelos estatísticos PLS e OPLS. Na Figura 21 c) vemos que, com o teste pareto PLS na segunda derivada do espectro, já começa a ser possível distinguir os quatro grupos, mas especialmente o grupo C do grupo D. Ainda assim, só conseguimos identificar os quatro grupos totalmente distintos no pareto OPLS, para a primeira e para a segunda derivada (Figura 12 b) e d)), no entanto, é importante ter em conta que esta é uma separação forçada e com elevada percentagem de ruído.

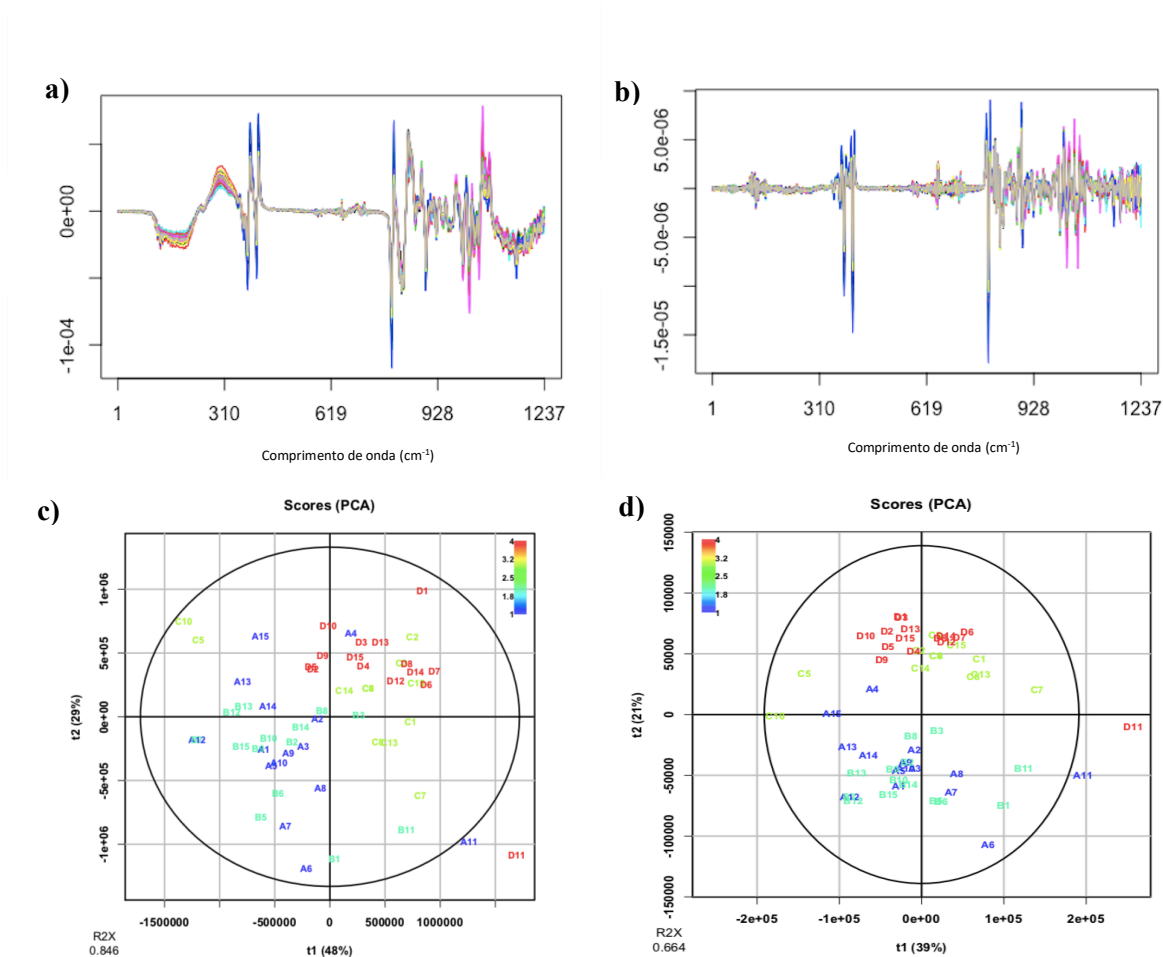


Figura 20: Espectro  $3000-900\text{ cm}^{-1}$ : a) espectros de absorção da primeira derivada; b) espectros de absorção da segunda derivada; c) centred PCA, 1ª derivada; d) centred PCA, 2ª derivada.

Comparando o gráfico de *loadings* da Figura 18 b) com os gráficos de *loadings* da Figura 22, percebemos que estes últimos são bastante mais difíceis de interpretar uma vez que as derivadas produzem espectros com mais ruído. Ainda assim, no gráfico 22 a) podemos observar que as principais diferenças se encontram na região  $2950\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$  e também  $1744\text{--}1730\text{ cm}^{-1}$ . Olhando para a linha p1 da Figura 22 a) vemos que as amostras da zona positiva do gráfico 21 c) (grupos de amostras C e D, pasta de azeitona Negrinha do Douro) têm mais compostos com ligações amida I ( $1600\text{ cm}^{-1}$ , proteínas) e mais ligações C-C/C-O ( $954, 1095\text{ cm}^{-1}$ , açúcares).

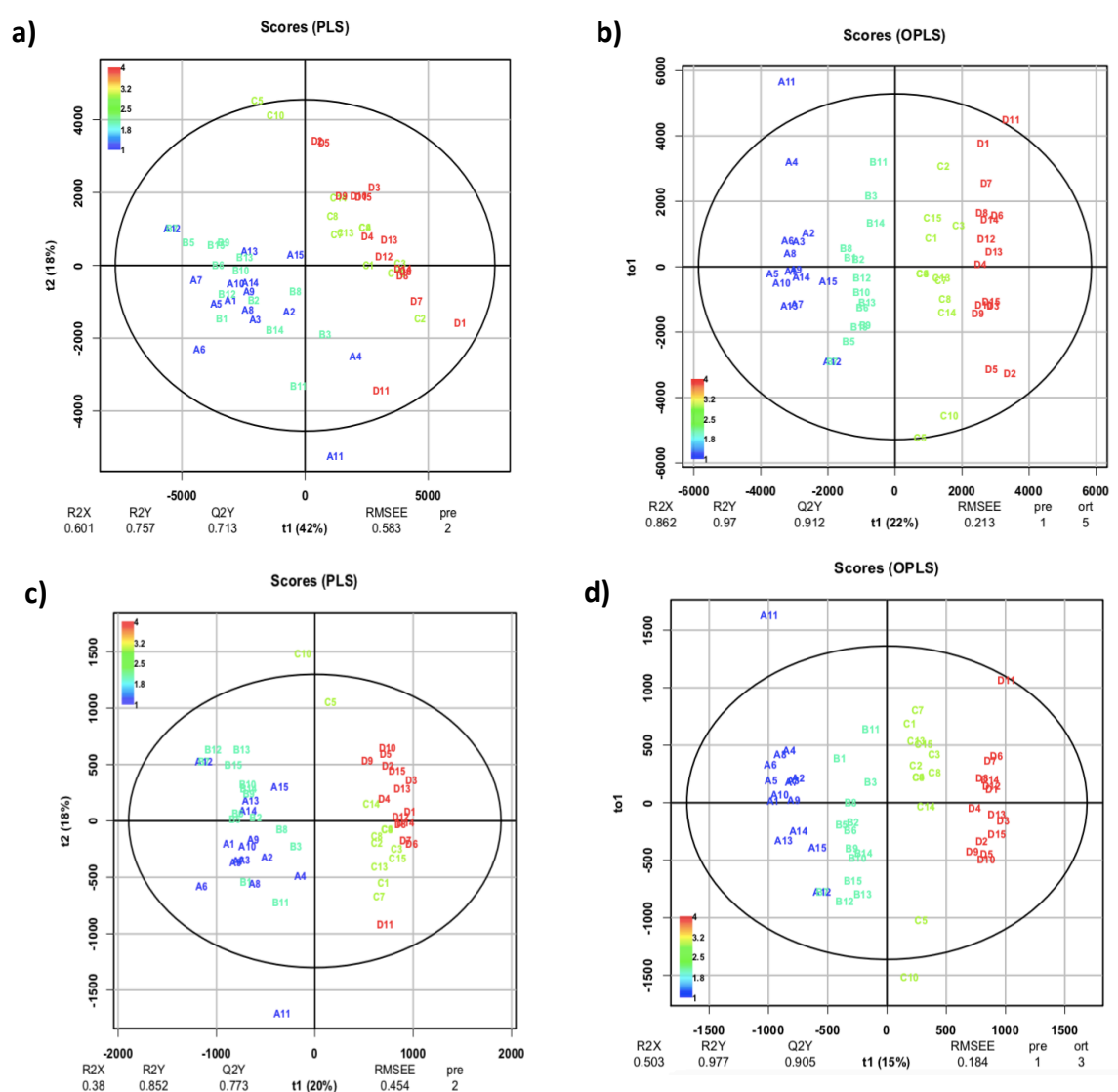


Figura 21: Espectro  $3000\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ : a) pareto PLS para primeira derivada; b) pareto OPLS para primeira derivada; c) pareto PLS para segunda derivada; d) pareto OPLS para segunda derivada.

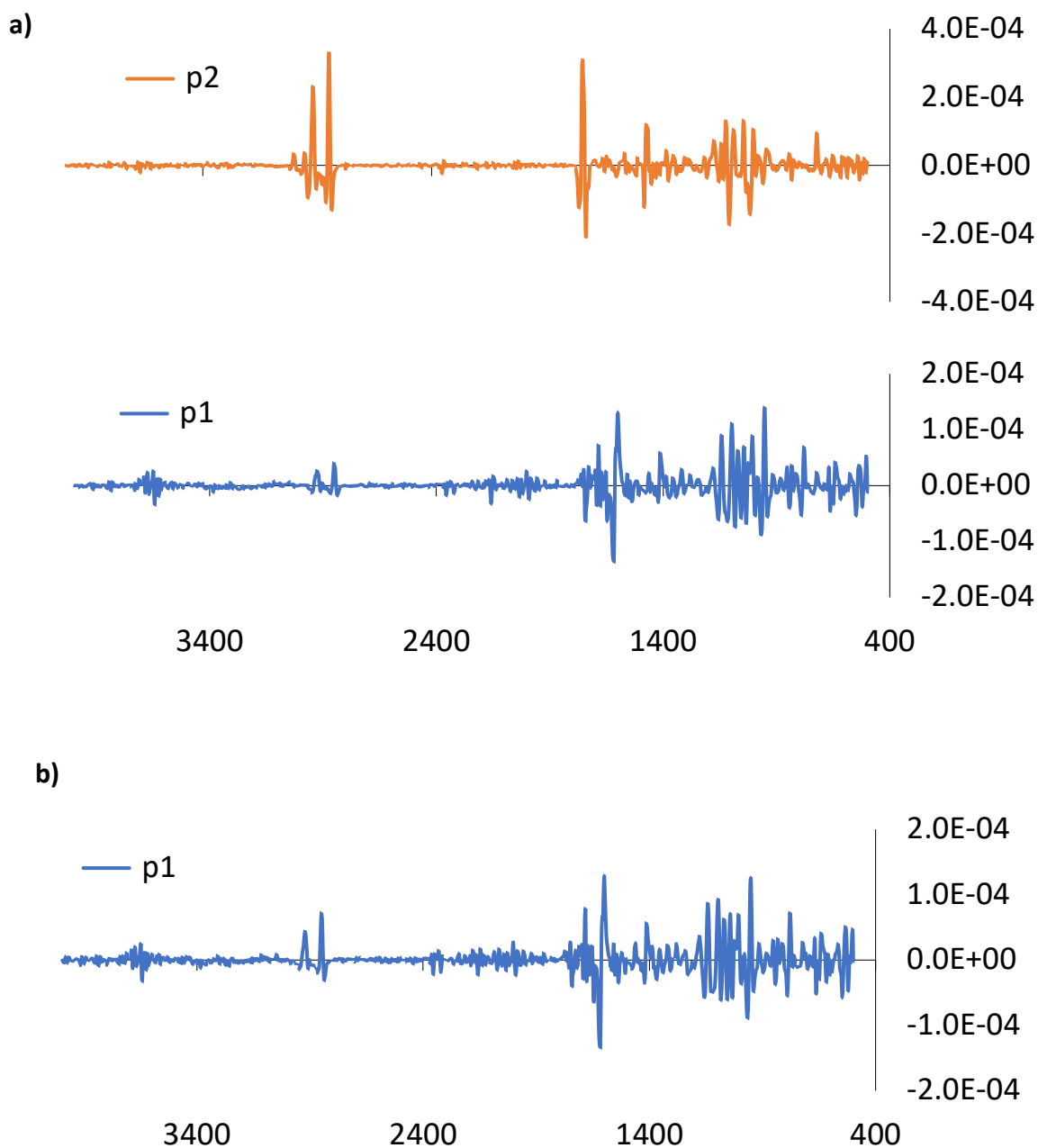


Figura 22: *Loadings* para espectros da segunda derivada (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ): a) pareto PLS; b) pareto OPLS.

A linha p2 na Figura 22 a) indica que as amostras do primeiro e segundo quadrante da Figura 21 c) têm mais compostos com ligações C-H (2920, 2850  $\text{cm}^{-1}$ , ácidos gordos) e com

ligações amida ( $1740\text{ cm}^{-1}$ , proteínas). A linha p1 na Figura 22 b) indica que as amostras da zona positiva do gráfico 21 d) (grupos de amostras C e D, pasta de azeitona Negrinha do Douro) têm mais compostos com ligações amida ( $1685, 1602\text{ cm}^{-1}$ , proteínas), mais ligações C-C/C-O ( $954, 1098\text{ cm}^{-1}$ , açúcares) e ainda mais ligações C-H ( $2925\text{ cm}^{-1}$ , ácidos gordos).

Em todos os gráficos de *scores*, conseguimos observar que a amostra A12 se encontra sobreposta com a amostra B1. Mesmo quando observamos uma clara distinção entre o grupo A e o grupo B, estas duas amostras encontram-se com os mesmos valores exatos de *scores*. Isto pode indicar que ocorreu um erro na identificação da amostra A12 aquando do procedimento experimental.

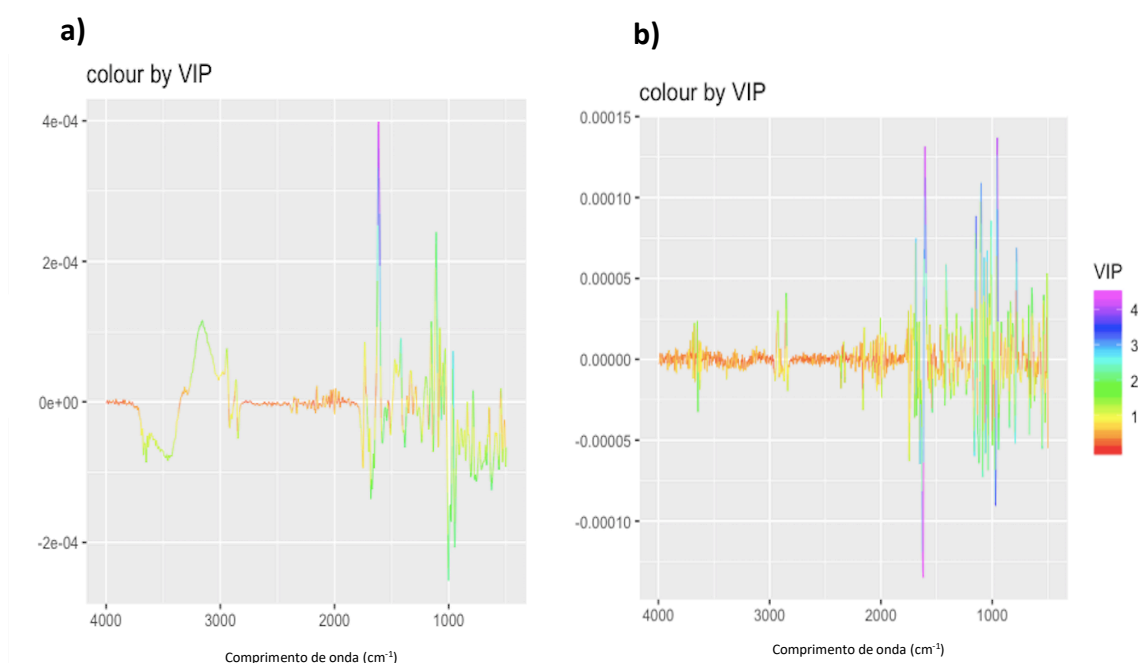


Figura 23: Espectro  $900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ : a) VIP pareto PLS para primeira derivada; b) VIP pareto PLS para segunda derivada;

Além dos *scores* e dos *loadings*, podemos ainda observar os VIPs (*Variable Importance of Projection*) que, de acordo com o respetivo código de cores nos permite saber quais os picos do espectro mais relevantes para a interpretação. Como podemos observar na Figura 23, os picos do espectro mais importantes encontram-se assinalados a roxo. Para a primeira derivada (Figura 23 a)) o pico mais importante para interpretação encontra-se na região dos  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Já na segunda derivada temos um pico importante na mesma região, mas também na região

dos 990-1100  $\text{cm}^{-1}$ . Enquanto que a região 1600  $\text{cm}^{-1}$  indica a importância de ligações amida (proteínas) na análise, a região 1100-990  $\text{cm}^{-1}$  indica a importância dos açúcares presentes nas amostras.

À semelhança do que foi feito para os espectros não derivatizados (Figura 19), realizou-se uma análise comparando apenas os grupos A e B entre si e, por outro lado, comparando apenas os grupos C e D mas, desta vez, para a primeira e segunda derivada dos espectros de absorção. Olhando para os valores dos *scores*, percebemos que conseguimos distinguir o grupo A do grupo B e também o grupo C do grupo D. Esta distinção verifica-se para a primeira e para a segunda derivada, na Figura 24 encontram-se os gráficos de *scores* e de *loadings* para a primeira derivada dos espectros de absorção. Comparando apenas amostras da mesma variedade de Pasta de Azeitona, conseguimos encontrar diferenças na composição de bisnagas opadas e não opadas, como tal, avançamos com a análise dos respetivos valores de *loadings* para perceber quais os principais compostos que diferem do grupo A para o grupo B e também do grupo C para o grupo D. Olhando para a linha p1 da Figura 24 c), vemos que as amostras da zona positiva do gráfico 24 a) têm mais compostos com ligações C- H (2911, 2846  $\text{cm}^{-1}$ , ácidos gordos) e mais ligações amida (1733  $\text{cm}^{-1}$ , proteínas). A linha p2 na Figura 24 c) indica que as amostras do primeiro e segundo quadrante da Figura 24 a) têm mais compostos com ligações C-H (2936, 2860  $\text{cm}^{-1}$ , ácidos gordos), mais ligações amida (1750, 1475  $\text{cm}^{-1}$ , proteínas). No gráfico 24 a) as amostras que se situam na zona positiva são as do grupo B (Pasta de Azeitona Galega com Figo – bisnagas opadas) e na zona negativa as do grupo A (Pasta de Azeitona Galega com Figo - produto conforme). Ou seja, as bisnagas opadas aparentam ter mais ácidos gordos e mais proteínas.

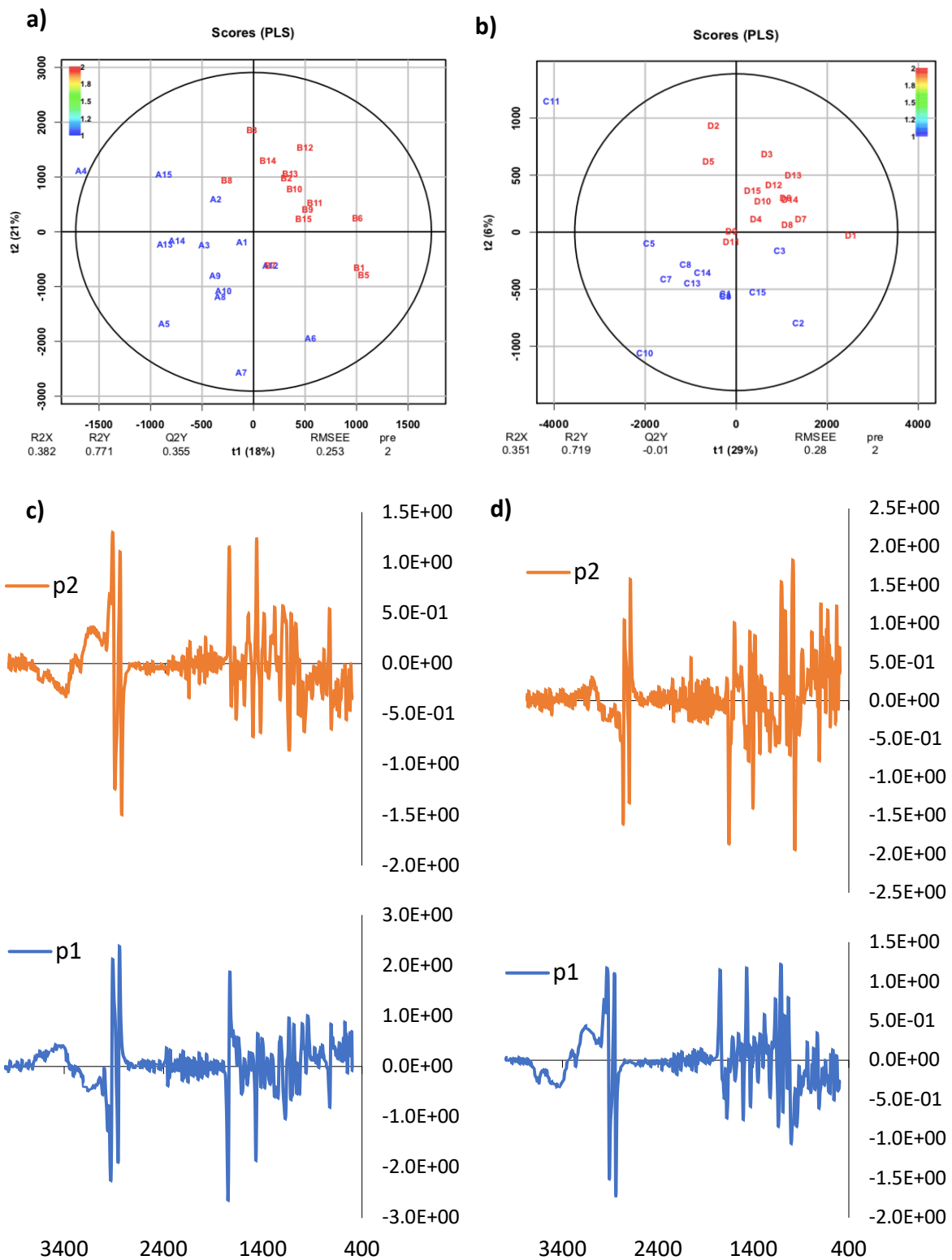


Figura 24: Scores pareto PLS, primeira derivada, 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ : a) Scores grupos A e B; b) Scores grupos C e D; c) Loadings pareto PLS grupos A e B; d) Loadings pareto PLS grupos C e D.

Depois olhando para a linha p1 da Figura 24 d) vemos que as amostras da zona positiva do gráfico 24 b) têm mais compostos com ligações C-H ( $2928, 2860\text{ cm}^{-1}$ , ácidos gordos), mais ligações amida ( $1750, 1475\text{ cm}^{-1}$ , proteínas) e mais ligações C-C/C-O ( $1112\text{ cm}^{-1}$ , açúcares). A linha p2 na Figura 24 d) indica que as amostras do primeiro e segundo quadrante da Figura 24 b) têm mais compostos com ligações C-H ( $2843\text{ cm}^{-1}$ , ácidos gordos), mais ligações C-C/C-O ( $1152, 1025\text{ cm}^{-1}$ , açúcares) e ainda mais ligações amida ( $1679\text{ cm}^{-1}$ , proteínas). No gráfico 24 b) as amostras que se situam na zona positiva e no primeiro quadrante são as do grupo D (Pasta de Azeitona Negrinha do Douro – bisnagas opadas) e na zona negativa, terceiro quadrante, as do grupo C (Pasta de Azeitona Negrinha do Douro - produto conforme). Ou seja, as bisnagas opadas aparentam ter mais ácidos gordos, mais açúcares e mais proteínas.

### 3.2.3 Conclusão

A análise FTIR mostrou-se bastante relevante para analisar a composição das pastas de azeitona e percebemos que é possível distinguir não só as duas variedades de pasta (Negrinha do Douro e Galega) mas também é possível encontrar diferenças na composição de bisnagas opadas e não opadas. No entanto, devido ao ruído presente nas derivadas dos espectros de absorção, não conseguimos concluir com clareza quais os compostos responsáveis pelas principais diferenças entre bisnagas opadas e não opadas. Ainda assim observamos que as amostras de pasta de azeitona Galega com Figo, retiradas de bisnagas opadas, aparentam ter mais ligações C-H (ácidos gordos) e mais ligações amida (proteínas) comparativamente a amostras da mesma variedade de pasta, mas de bisnagas não opadas. Por outro lado, relativamente à pasta de azeitona Negrinha do Douro, as amostras de bisnagas opadas aparentam ter mais ácidos gordos, mais proteínas e ainda mais açúcares. Não querendo alterar a formulação deste produto, a próxima etapa deverá passar por uma tentativa de otimização do processamento da matéria-prima, as azeitonas, com o objetivo de otimizar a segurança e qualidade do produto final.



### 3.3 Otimização da Pasta de Azeitona

Sabe-se que a água é essencial para o crescimento de microrganismos. Como tal, a quantidade de água disponível num dado alimento pode influenciar significativamente a sua segurança e qualidade. Não querendo modificar a formulação da pasta de azeitona decidiu-se testar um novo método de produção da mesma. Testamos este novo método com dois objetivos principais: por um lado, reduzir a quantidade de água presente na pasta de azeitona; e, por outro lado, remover ou reduzir possíveis microrganismos patogénicos que pudessem estar presentes na matéria-prima inicial, as azeitonas cruas. O processamento térmico é comumente utilizado na produção de alimentos como forma de pasteurização ou esterilização para matar bactérias e inativar enzimas que possam prejudicar a preservação do produto alimentar<sup>40</sup>.

Na produção de pasta de azeitona pelo método tradicional todos os ingredientes eram triturados e homogenizados sem passar por qualquer etapa de aquecimento. Segundo o novo método, as azeitonas foram aquecidas durante cerca de 25 minutos a uma temperatura de aproximadamente 100°C. Durante este período do tempo as azeitonas perdiam cerca de 30% do seu peso em água. Depois de um breve arrefecimento das azeitonas, até os 40°C adicionavam-se os restantes ingredientes e a mistura era homogenizada para, de seguida passar para o embalamento.

A atividade da água ( $a_w$ ) é um parâmetro extremamente utilizado na indústria alimentar. Muitas vezes utiliza-se preferencialmente este método e não o teor de humidade uma vez que a  $a_w$  é determinante para o crescimento de microrganismos, é mais fácil de quantificar e a sua medição não é destrutiva para a amostra<sup>41</sup>. No entanto, uma vez que o equipamento destinado à medição da atividade da água não se encontrava disponível, optamos pela medição da percentagem de humidade.

Para a medição da percentagem de humidade utilizou-se o *Moisture Analyser DBS* (KERN) disponibilizado pelos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Este aparelho procedia a um programa de secagem (a 105°C) e comparando o peso inicial com o peso final da amostra calculava a percentagem de humidade da mesma.

Desta forma observou-se a percentagem de humidade em dois tipos de amostra diferentes (3 réplicas cada), a pasta de azeitona não cozinhada (produzida pelo método tradicional) e a pasta de azeitona cozinhada (produzida pelo novo método).

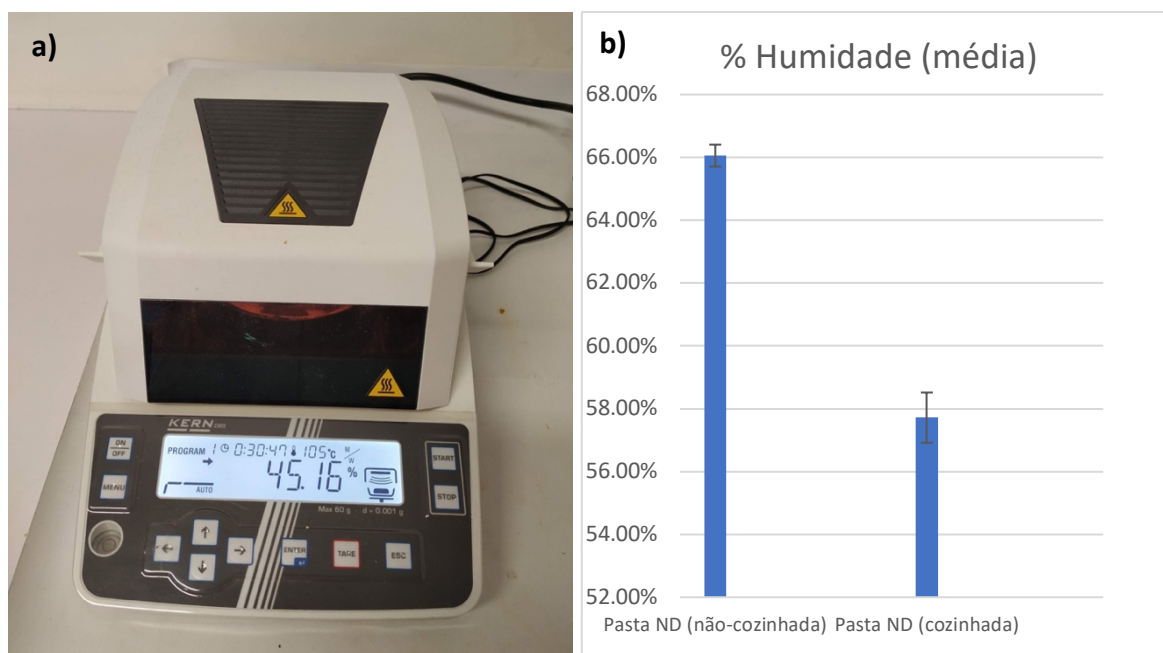


Figura 25: a) *Moisture Analyser* DBS (KERN) disponibilizado pelos laboratórios do Departamento de Química da Universidade de Aveiro; b) Percentagem de humidade, em média, e respetivo desvio-padrão, da pasta de Azeitona Negrinha do Douro cozinhada e não-cozinhada.

Foi possível verificar que a Pasta de Azeitona Negrinha do Douro perdeu, em média 8,34% humidade, ao ser cozinhada. Passados 2 meses da produção da pasta de azeitona com o novo método notou-se que cerca de 2/3 das bisnagas continuavam a opar. Futuramente continuará a produzir-se pasta de azeitona com este novo método, mas com uma percentagem de sal maior para tentar reduzir possíveis contaminações.

## IV- DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS

Na maioria das indústrias, incluindo a indústria alimentar, a inovação contínua e eficaz é reconhecida como a maior fonte de vantagem competitiva<sup>42</sup>. No que diz respeito ao desenvolvimento de novos produtos, a maioria dos esforços foca-se em pequenas mudanças incrementais como o melhoramento dos produtos já existentes e expansão das linhas de produtos<sup>43</sup>. A meia.dúzia® procura regularmente criar novos sabores e novos produtos alimentares. Assim, o processo de desenvolvimento de novos produtos seguiu 4 etapas principais: brainstorming, análise de mercado, testes preliminares e análise sensorial.

Há diversos processos que podem ser utilizados para geração de ideias, o mais comum é o Brainstorming que consiste numa sessão onde são registadas diversas sugestões, sendo que é mais valorizada a quantidade do que a qualidade e não há julgamentos quanto ao valor das ideias<sup>44</sup>. Depois de registarmos diversas ideias para novos sabores de doces de fruta, chutneys e cremes de chocolate era necessário perceber quais as ideias mais relevantes para proceder a testes preliminares das mesmas. Desta forma, realizou-se uma breve análise de mercado de forma a perceber se já existiam ou não produtos idênticos e quais os principais *players* de mercado. Para cada um dos produtos que estavam em consideração fez-se um levantamento de produtos idênticos existentes no mercado, nacional e internacional, e respetiva lista de ingredientes. Avaliaram-se ainda receitas que poderiam existir com esses mesmos produtos, especialmente receitas de restaurantes conceituados e de chefs de cozinha uma vez que falamos de uma linha de produtos gourmet. Assim, esta pesquisa permitiu-nos avaliar quais os sabores que poderiam ter mais utilidade no setor da restauração. Depois de proceder a esta breve análise de mercado avançou-se então com alguns testes preliminares.

## 4.1 TESTES PRELIMINARES DE NOVAS FORMULAÇÕES

Ao longo deste estágio, foram conduzidos diversos testes para encontrar novas formulações que vão de encontro aos princípios da empresa bem como às tendências de mercado. No total testaram-se 6 cremes de chocolate, 12 chutneys e 4 doces de fruta.

Tabela 9: Testes preliminares: novos sabores de cremes de chocolate, juntamente com a respetiva lista de ingredientes.

Cremes de chocolate		
<b>Chocolate negro, pera e amêndoa caramelizada</b>  (Pera, açúcar, chocolate negro São Tomé, amêndoas, essência de baunilha, cravinho, gelificante (pectina), regulador de acidez (ácido cítrico))	<b>Chocolate negro, pera e Vinho do Porto</b>  (Pera, açúcar, chocolate negro São Tomé, essência de baunilha, Vinho do Porto (Tawny), gelificante (pectina), regulador de acidez (ácido cítrico))	<b>Chocolate negro, Figo e Vinho do Porto</b>  (Figo, açúcar, chocolate negro São Tomé, Vinho do Porto (Tawny), canela, gelificante (pectina), regulador de acidez (ácido cítrico))
<b>Chocolate negro com Banana da Madeira, Caramelo e Flor de Sal</b>  (Banana da Madeira, açúcar, chocolate negro São Tomé, caramelo, flor de sal, regulador de acidez (ácido cítrico))	<b>Chocolate branco com banana e laranja</b>  (Banana da Madeira, sumo de laranja, raspas de laranja, açúcar, chocolate branco, caramelo, avelã)	<b>Creme de chocolate branco com framboesas</b>  (Framboesas, chocolate branco, açúcar, Vinho do Porto (Tawny e branco), hortelã-pimenta, pectina, ácido cítrico)

Tabela 10: Testes preliminares: novos sabores de doces de fruta, juntamente com a respetiva lista de ingredientes.

Doces de Fruta			
<b>Doce de Pêssego da Cova da Beira com Pinhão</b>  (Pêssego da Cova da Beira, açúcar, pinhão torrado)	<b>Doce de Tomate</b>  (Tomate, açúcar, manjerição, sumo de lima, gelificante (pectina), regulador de acidez (ácido cítrico))	<b>Doce de Alperce e Moscatel de Setúbal</b>  (Alperces, açúcar, Moscatel de Setúbal)	<b>Doce de Alperce e Lima</b>  (Alperces, açúcar, sumo de lima, raspas de lima)

Tabela 11: Testes preliminares: novos sabores de chutneys, juntamente com a respetiva lista de ingredientes.

Chutneys		
<b>Chutney de Cebola Caramelizada e Vinagre Balsâmico 1</b>	<b>Chutney de Cebola Caramelizada e Vinagre Balsâmico 2</b>	<b>Chutney de Maçã de Alcobaça e uva passa</b>

(Cebola roxa, açúcar, vinagre balsâmico, vinagre de vinho branco, alho, flor de sal, Gengibre, canela, pimenta rosa, pimenta branca, gelificante (pectina))	(Cebola roxa, açúcar, vinagre balsâmico, vinagre de vinho branco, alho, flor de sal, Gengibre, canela, pimenta rosa, pimenta branca, gelificante (pectina))	(Maçã de Alcobaça, açúcar, vinagre de sidra, vinagre de vinho branco, uva passa, flor de sal, pimenta verde, canela, noz-moscada, cravinho-da-Índia)
<b>Chutney de Pera Rocha, Castanha e Alecrim</b>  (Pera rocha, açúcar, vinagre de vinho branco, castanhas, alecrim, flor de sal, gengibre)	<b>Chutney de Pera Rocha e Vinho do Porto</b>  (Pera rocha, açúcar, vinagre de vinho branco, vinho do Porto (Tawny), alecrim, flor de sal, Açafrão-das-Índias, pimenta rosa)	<b>Chutney de Maçã, Lima e Hortelã</b>  (Maçã de Alcobaça, açúcar, vinagre de sidra, hortelã-pimenta, flor de sal, sumo de lima, gengibre)
<b>Chutney de Maçã, Lima e Manjerição</b>  (Maçã de Alcobaça, açúcar, vinagre de sidra, manjerição, flor de sal, alho, sumo de lima, gengibre)	<b>Chutney de castanha e Vinho do Porto 1</b>  (Castanhas, açúcar, vinagre de sidra, vinho do Porto, mel de rosmaninho, flor de sal, cominhos, noz-moscada, zimbro)	<b>Chutney de castanha e Vinho do Porto 2</b>  (Castanhas, açúcar, vinagre de sidra, vinho do Porto, mel de rosmaninho, flor de sal, cominhos, noz-moscada, zimbro)
<b>Chutney de Figo</b>  (Figo, açúcar, vinagre de vinho branco, flor de sal, alho, pimenta preta/ branca, louro, canela)	<b>Chutney de Beterraba</b>  (Beterraba, açúcar, maçã, vinagre de vinho branco, vinagre de sidra, flor de sal, pimenta branca, cardamomo, cravinho-da-Índia, noz moscada, malagueta)	<b>Chutney de Pera Rocha e Tomate Seco</b>  (Pera rocha, tomate seco, cebola, raspas de laranja, sumo de laranja, açúcar, vinagre de vinho branco, vinho do Porto, noz-moscada, pimenta preta/branca, gengibre)

## 4.2 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é de extrema importância para a indústria alimentar pois permite-nos estimar a aceitabilidade que um dado produto terá no mercado e também pode ser uma importante ferramenta para avaliar a qualidade do produto<sup>45</sup>.

No marketing utiliza-se a avaliação sensorial de produtos uma vez que esta pode ser uma ferramenta importante para entender o público-alvo, identificar as características mais importantes de um produto, perceber se se deve continuar ou não no desenvolvimento de novos produtos, corrigir problemas de qualidade e comparar produtos com outros de marcas concorrentes<sup>46</sup>.

Os aspetos qualitativos mais importantes de um produto alimentar são o seu aroma, aparência, sabor e textura. Estão são as propriedades que distinguem o produto de outros<sup>47</sup>. Para estabelecermos padrões de desempenho e avaliar o progresso durante o desenvolvimento de novos produtos é essencial ter um método de avaliação científica e uma medida quantitativa das características do produto<sup>46</sup>.

A análise sensorial descritiva permite-nos comparar protótipos de produtos e perceber quais poderão ser as reações dos consumidores em relação a certos atributos sensoriais<sup>47</sup>. Desta forma, com o objetivo de perceber quais os protótipos com maior aceitabilidade por parte dos consumidores e quais os parâmetros em que podíamos melhorar os produtos, decidimos realizar um pequeno teste de análise sensorial. O painel de provadores era constituído por 5 pessoas, sendo todos estes colaboradores da empresa. Avaliou-se a classificação global dos produtos, mas também outras características mais específicas. Para cada produto tentamos perceber a intensidade dos sabores primários (doce, salgado, amargo e ácido) e avaliou-se ainda a textura dos produtos tendo em conta dois parâmetros: a espessura e a homogeneidade.

Podemos observar todos os resultados desta análise sensorial nos gráficos abaixo.

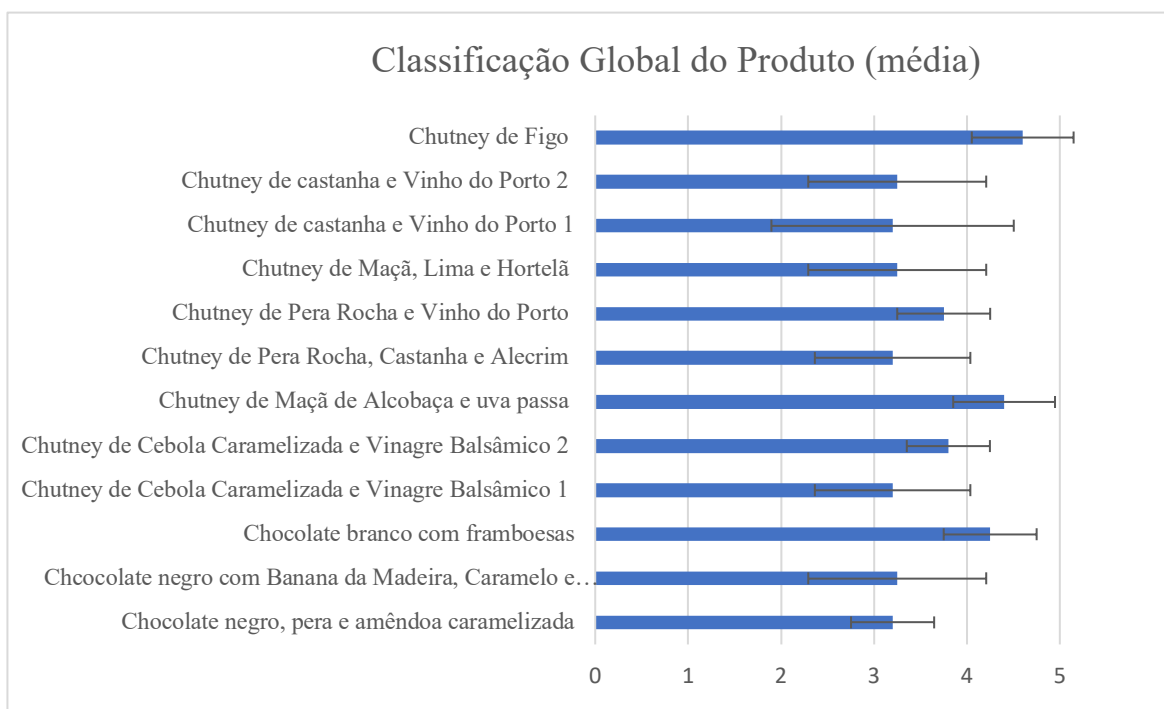
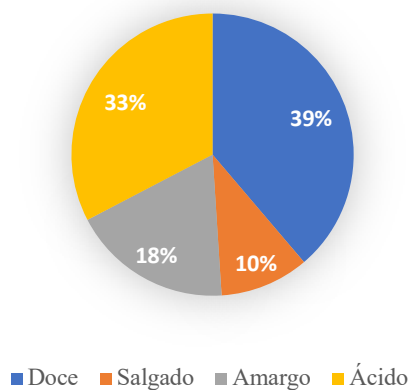


Figura 26: Classificação global do produto, em média, e respetivo desvio-padrão.  
1= Má; 2= Medíocre; 3= Aceitável; 4= Boa; 5= Muito Boa.

Olhando para a classificação global dos produtos conseguimos perceber quais os favoritos para o painel de provadores. Com melhor classificação destaca-se o Chutney de Figo (média 4,6), o Chutney de Maçã de Alcobaça e Uva Passa (média 4,4) e ainda o Creme de Chocolate Branco com Framboesas (média 4,25), todos entre o que é considerado Bom e Muito Bom. Os produtos com menor classificação global foram o Chutney de Cebola Caramelizada e Vinagre Balsâmico 1 e o Chutney de Pera Rocha, Castanha e Alecrim, ambos com média de 3,2, ou seja, ligeiramente acima do que é considerado aceitável. Conseguimos ainda perceber que o desvio-padrão é bastante elevado. Isto deve-se ao número de provadores muito baixo, constituído apenas por cinco pessoas, e ainda ao facto de ser um painel de provadores não-especializados. Ainda assim, pode ser uma ferramenta útil para perceber quais as preferências do consumidor e quais os novos sabores em que vale a pena investir.

### Sabor - chocolate branco e framboesa



### Creme de chocolate branco e framboesas

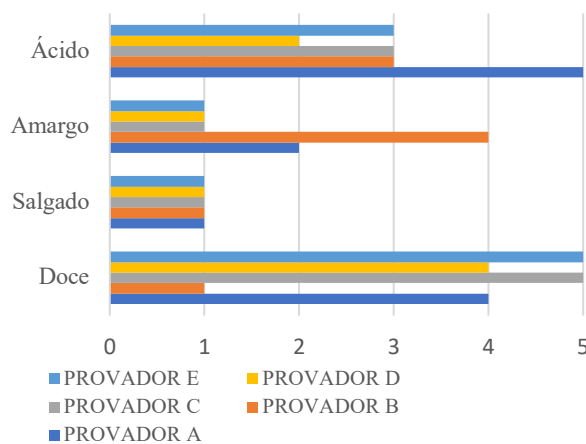


Figura 27: Intensidade dos sabores primários (doce, salgado, amargo e ácido) para o teste do produto creme de chocolate branco e framboesas.

Comparando a opinião dos diferentes provadores, como na Figura 23, conseguimos notar que os valores registados pelo provador B diferem bastante do restante grupo. Para obter resultados mais fiáveis poderia ser interessante remover o provador B da análise. Neste caso,

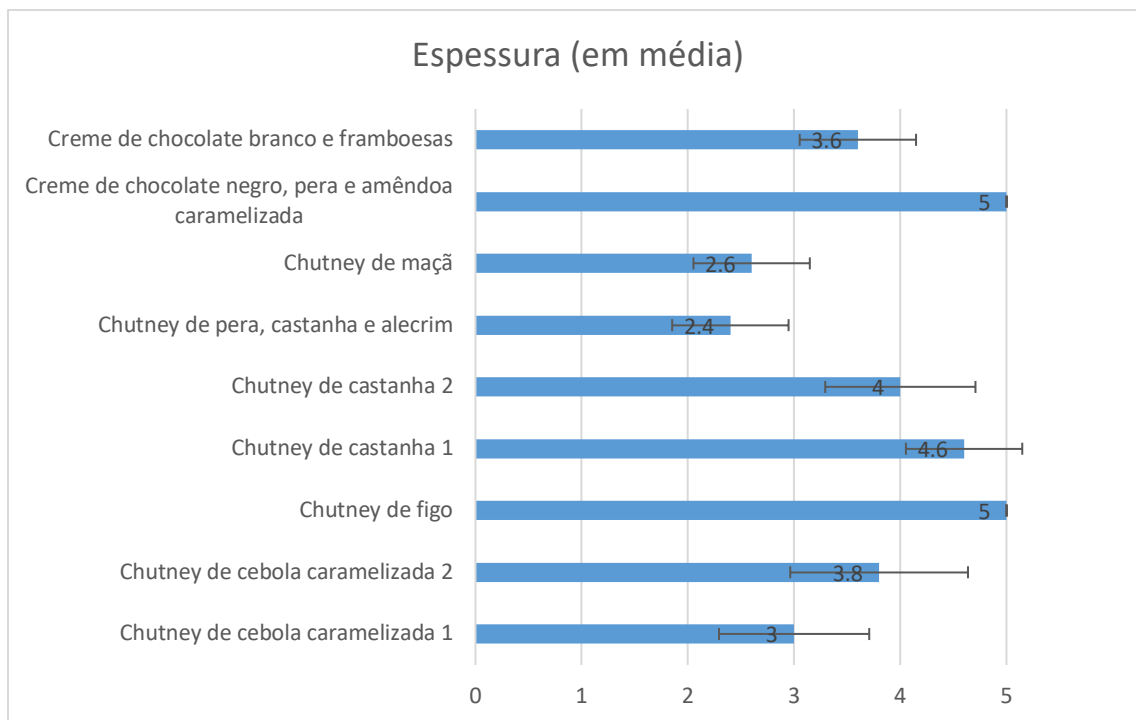


Figura 28: Classificação da textura dos produtos tendo em conta a sua espessura (em média). 5= muito espesso; 1= aquoso



como pretendíamos apenas ficar com diferentes opiniões sobre os produtos decidimos manter todas as avaliações.

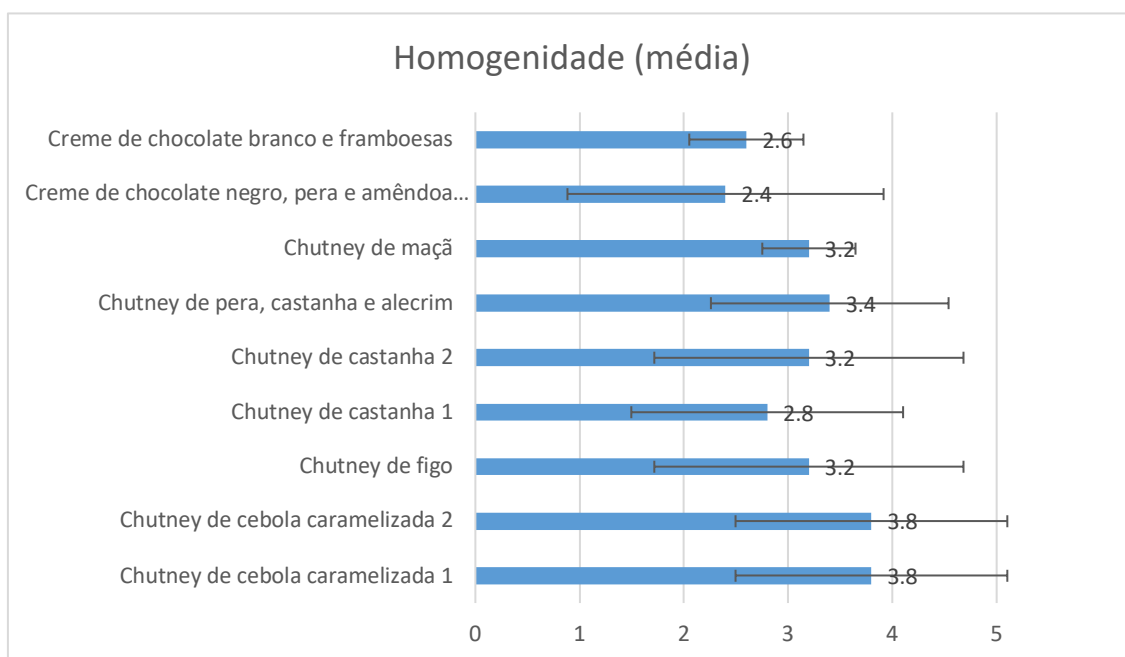


Figura 29: Classificação da textura dos produtos tendo em conta a sua homogeneidade (em média). 5= Bifásico; 1= Homogêneo

Um fator extremamente importante na indústria alimentar é a textura e como tal, decidimos avaliar também a espessura e homogeneidade dos produtos. Uma vez que todos os produtos da empresa são embalados em bisnagas de alumínio, a textura tem um papel ainda mais fundamental uma vez que se o produto for muito espesso o processo de embalamento torna-se mais complicado e também para o consumidor, torna-se mais difícil conseguir retirar o produto da sua embalagem. Assim, percebemos que será necessário otimizar a textura dos produtos Chutney de Figo e Creme de Chocolate Negro, Pera e Amêndoa Caramelizada uma vez que ambos foram avaliados pelos provadores como muito espessos na Figura 25. Quanto à homogeneidade (Figura 26) procuramos produtos mais homogêneos, como o Creme de Chocolate Branco e Framboesas.

Em conclusão, esta análise sensorial foi extremamente útil para compreender melhor esta ferramenta de avaliação quantitativa das propriedades organoléticas dos possíveis novos produtos que foram testados. Ainda assim, não conseguimos concluir com precisão quais os que teriam mais aceitabilidade no mercado especialmente porque o painel de provadores era

bastante reduzido. No próximo ano é possível que se avance com a comercialização de alguns dos sabores testados como o chutney de figo ou chutney de maçã, lima e hortelã.

## **V – CONCLUSÃO DO RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

O trabalho aqui descrito teve três objetivos centrais: o primeiro passava por adquirir competências na produção de compotas e compreender todas as etapas de produção; o segundo passava pela análise e otimização das pastas de azeitona e, por fim, o terceiro objetivo seria o desenvolvimento de novos produtos, como a criação de um novo sabor de doce de fruta, creme de chocolate ou chutney.

Estes objetivos foram cumpridos total ou parcialmente, tendo este sido um estágio bastante enriquecedor. Grande parte do trabalho deste ano letivo passou pelas atividades regulares do dia-a-dia da empresa, desde a receção das matérias-primas até ao embalamento do produto final, o que permitiu o contacto com a realidade empresarial dentro da indústria de manufatura de compotas e assim adquirir competências essenciais para a exigência do mercado de trabalho.

Relativamente ao segundo objetivo, a análise FTIR realizada na Universidade de Aveiro complementou o estágio com uma componente laboratorial. Esta foi essencial para compreender melhor as diferenças na composição das duas variedades de pasta de azeitona e ainda, em cada uma destas, analisar as diferenças entre bisnagas opadas e bisnagas conformes, adequadas para comercialização. Efetuaram-se ainda testes de um novo método de produção da pasta de azeitona com o objetivo de otimizar este produto, essencial para reduzir a quantidade de bisnagas opadas e assim reduzir o desperdício das mesmas. No futuro, a pasta de azeitona da meia dúzia continuará a ser produzida com este novo método.

Por fim, quanto aos novos produtos testados, a empresa demonstrou satisfação pelos objetivos atingidos, podendo alguns dos novos sabores de doces e chutneys vir a ser comercializados no futuro.



## VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Disponível em: <<http://www.meiaduzia.pt/pt/meia-duzia>> consultado em 17 de Dezembro de 2018.
2. Varanda, E. Compotas Meia Dúzia conquistam o mundo a partir de Famalicão. Disponível em: <<https://jornaleconomico.sapo.pt/noticias/compotas-meia-duzia-conquistam-o-mundo-a-partir-de-famalicao-340558>> consultado em 19 de Dezembro de 2018. 340558 (2018).
3. Sousa, E., Albuquerque, T. G., & Costa, H. S. (2016). Produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação registada: panorama europeu. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. Boletim Epidemiológico Observações, 5(17):6-9
4. Soeiro, A. (2006). Produtos Qualificados. *Produtos antigos e respostas modernas: In Segurança e Qualidade Alimentar. Noções Gerais, Regulamentação e Certificação*. Instituto para a Segurança, Higiene e Saúde no Trabalho, 42-43.
5. Lin, S. Y., & Lin, C. C. (2016). One-step Real-time Food Quality Analysis by Simultaneous DSC–FTIR Microspectroscopy. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(2), 292-305.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) & World Health Organization (WHO). (2003). Assuring food safety and quality: guidelines for strengthening national food control systems. FAO food and nutrition paper 76.
7. Afonso, A. (2008). Análise de perigos. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 5, 26-28.
8. Rhodhamel, E. J. (1992). Overview of biological, chemical, and physical hazards. In *HACCP* (pp. 8-28). Springer, Boston, MA.
9. Lammerding, A. M., & Fazil, A. (2000). Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *International journal of food microbiology*, 58(3), 147-157.
10. Türkmen, İ., & Ekşi, A. (2011). Brix degree and sorbitol/xylitol level of authentic pomegranate (*Punica granatum*) juice. *Food chemistry*, 127(3), 1404-1407.
11. Laleh, G. H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R., & Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four Berberis species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 90-92.
12. Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V. I. V. I. A. N., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., & Martínez-Monzó, J. (2013). Effect of pH on color and texture of food products. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 158-170.
13. Willats, W. G., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: new insights into an old

- polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97-104.
14. Alimentarius, C. (1995). General standard for food additives CODEX STAN 192-1995, adopted in 1995, revision 2015. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, and World Health Organization, Geneva*, 36(3).
  15. Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P., Rodrigues, C., & Pandey, A. (2006). New perspectives for citric acid production and application. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2).
  16. Smith, J., & Hong-Shum, L. (Eds.). (2003). *Food additives data book* (Vol. 56). Oxford, UK: Blackwell science.
  17. Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/nahrung*, 44(3), 158-163.
  18. Yen, G. C., Duh, P. D., & Tsai, H. L. (2002). Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food chemistry*, 79(3), 307-313.
  19. Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I. C., Saraiva, M. M. & Novais, M. R (2005). Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*.
  20. Stanojevic, D., Comic, L., Stefanovic, O., & Solujic-Sukdolac, S. (2009). Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. *Bulg J Agric Sci J*, 15(4), 307-11.
  21. Di Giovacchino, L., Sestili, S., & Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 587-601.
  22. Regulation, H. (1991). Commission Regulation (EEC) No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis Official Journal L 248, 5 September 1991. *Offic. JL*, 248, 1-83.
  23. Arnoldi, A. (2001). Thermal processing and food quality: analysis and control. *Thermal technologies in food processing*, 138-159.
  24. Pinto, J. (2010). Metabonomics of the Blood of Pregnant Women for Diagnosis of Prenatal Disorders. Tese de Mestrado em Métodos Biomoleculares. Departamento de Química - Universidade de Aveiro. 97 pp.
  25. Davis, R., & Mauer, L. J. (2010). Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: a rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology*, 2,

1582-1594.

26. Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J. M., & Renard, C. M. (2009). Application of ATR-FTIR for a rapid and simultaneous determination of sugars and organic acids in apricot fruit. *Food Chemistry*, 115(3), 1133-1140.
27. Veraverbeke, E. A., Lammertyn, J., Nicolai, B. M., & Irudayaraj, J. (2005). Spectroscopic evaluation of the surface quality of apple. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(4), 1046-1051.
28. Gurdeniz, G. & Ozen, B. (2009). Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chem.*
29. Milosevic, M. (2004). Internal reflection and ATR spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*, 39(3), 365-384.
30. Schmitt, J., & Flemming, H. C. (1998). FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41(1), 1-11.
31. Grdadolnik, J. (2002). ATR-FTIR spectroscopy: Its advantage and limitations. *Acta Chimica Slovenica*, 49(3), 631-642.
32. Coimbra, M. A., Barros, A., Rutledge, D. N., & Delgadillo, I. (1999). FTIR spectroscopy as a tool for the analysis of olive pulp cell-wall polysaccharide extracts. *Carbohydrate Research*, 317(1-4), 145-154.
33. Duarte, I. F., Barros, A., Delgadillo, I., Almeida, C., & Gil, A. M. (2002). Application of FTIR spectroscopy for the quantification of sugars in mango juice as a function of ripening. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3104-3111.
34. Tapp, H. S., Defernez, M., & Kemsley, E. K. (2003). FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(21), 6110-6115.
35. El Darra, N., Rajha, H. N., Saleh, F., Al-Oweini, R., Maroun, R. G., & Louka, N. (2017). Food fraud detection in commercial pomegranate molasses syrups by UV–VIS spectroscopy, ATR-FTIR spectroscopy and HPLC methods. *Food control*, 78, 132-137.
36. Lindon, J. C., Holmes, E., & Nicholson, J. K. (2004). Metabonomics and its role in drug development and disease diagnosis. *Expert review of molecular diagnostics*, 4(2), 189-199.
37. Trygg, J., Holmes, E., & Lundstedt, T. (2007). Chemometrics in metabonomics. *Journal of proteome research*, 6(2), 469-479.
38. Mavel, S., Nadal-Desbarats, L., Blasco, H., Bonnet-Brilhault, F., Barthélémy, C., Montigny, F., ... & Emond, P. (2013). 1H–13C NMR-based urine metabolic profiling in autism spectrum disorders. *Talanta*, Elsevier 114, 95-102.

39. Soher, B. J., Young, K., & Maudsley, A. A. (2001). Representation of strong baseline contributions in 1H MR spectra. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 45(6), 966-972.
40. Fryer, P. J., & Robbins, P. T. (2005). Heat transfer in food processing: ensuring product quality and safety. *Applied Thermal Engineering*, 25(16), 2499-2510.
41. Maltini, E., Torreggiani, D., Venir, E., & Bertolo, G. (2003). Water activity and the preservation of plant foods. *Food Chemistry*, 82(1), 79-86.
42. Filieri, R. (2013). Consumer co-creation and new product development: a case study in the food industry. *Marketing Intelligence & Planning*, 31(1), 40-53.
43. Veryzer Jr, R. W. (1998). Discontinuous innovation and the new product development process. *Journal of Product Innovation Management: An International Publication of the Product Development & Management Association*, 15(4), 304-321.
44. Bello, D. C., & Barczak, G. J. (1990). Using industrial trade shows to improve new product development. *Journal of Business & Industrial Marketing*, 5(2), 43-56.
45. Teixeira, L. V. (2009). Análise sensorial na indústria de alimentos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 64(366), 12-21.
46. Iannario, M., Manisera, M., Piccolo, D., & Zuccolotto, P. (2012). Sensory analysis in the food industry as a tool for marketing decisions. *Advances in Data Analysis and classification*, 6(4), 303-321.
47. Murray, J. M., Delahunty, C. M., & Baxter, I. A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food research international*, 34(6), 461-471.



## VII – ANEXOS

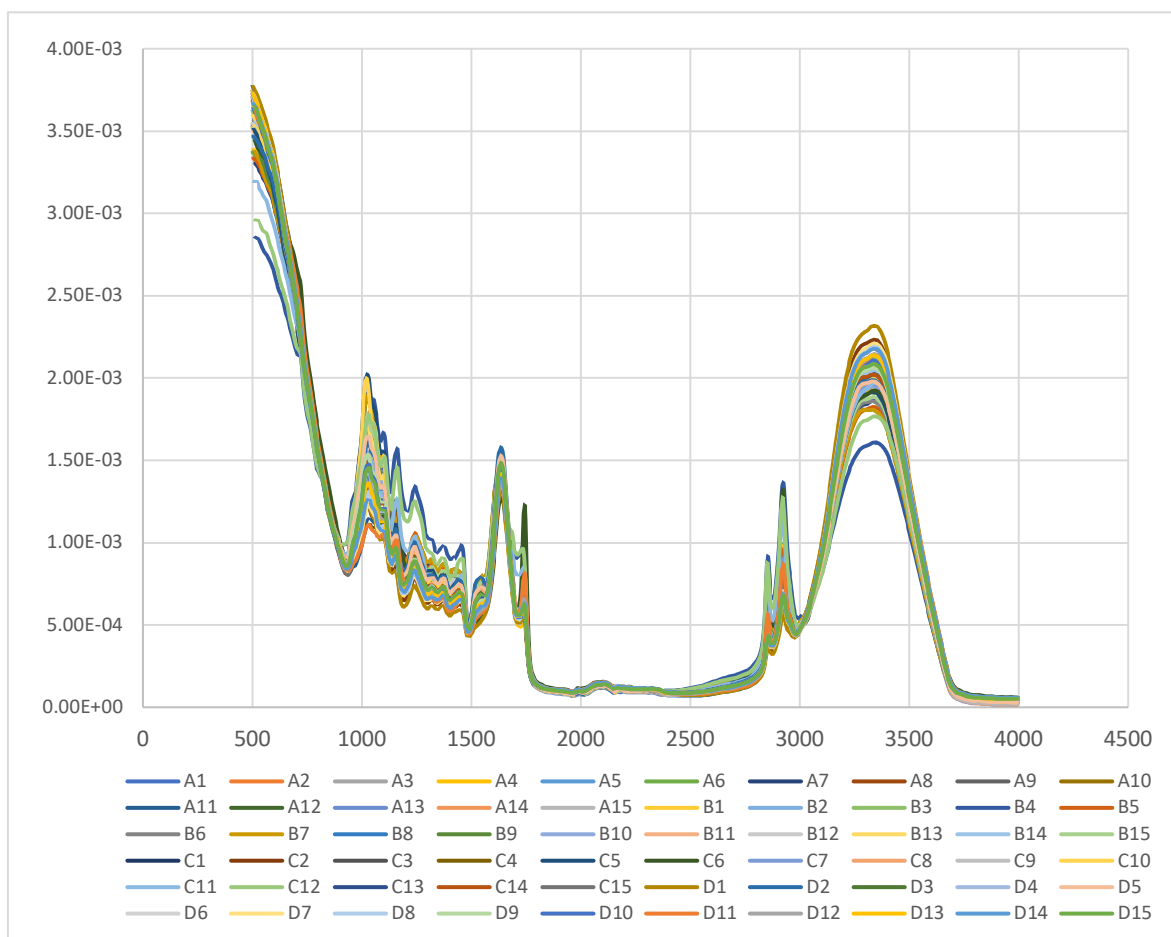


Figura 1: Espectros de absorção obtidos por FTIR com ATR (resolução= 8, número de scans=128 e alcance= 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ). Grupo A - Pasta de Azeitona Galega com Figo (produto conforme); Grupo B - Pasta de Azeitona Galega com Figo (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta de Azeitona Negrinha do Douro (produto conforme); Grupo D - Pasta de Azeitona Negrinha do Douro (bisnagas opadas).

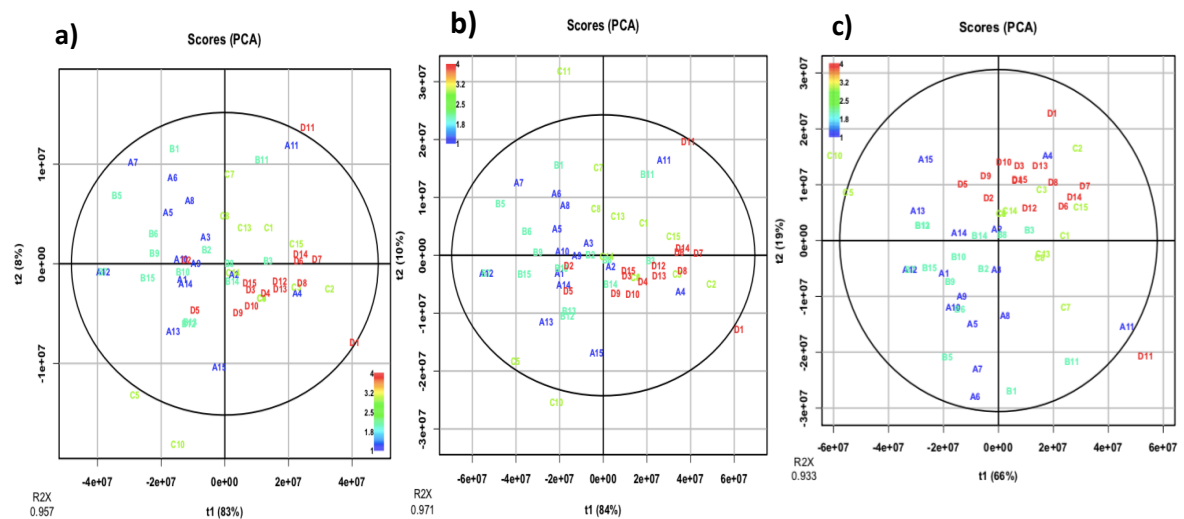


Figura 2: *Scores* (FTIR-ATR) centred PCA – a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

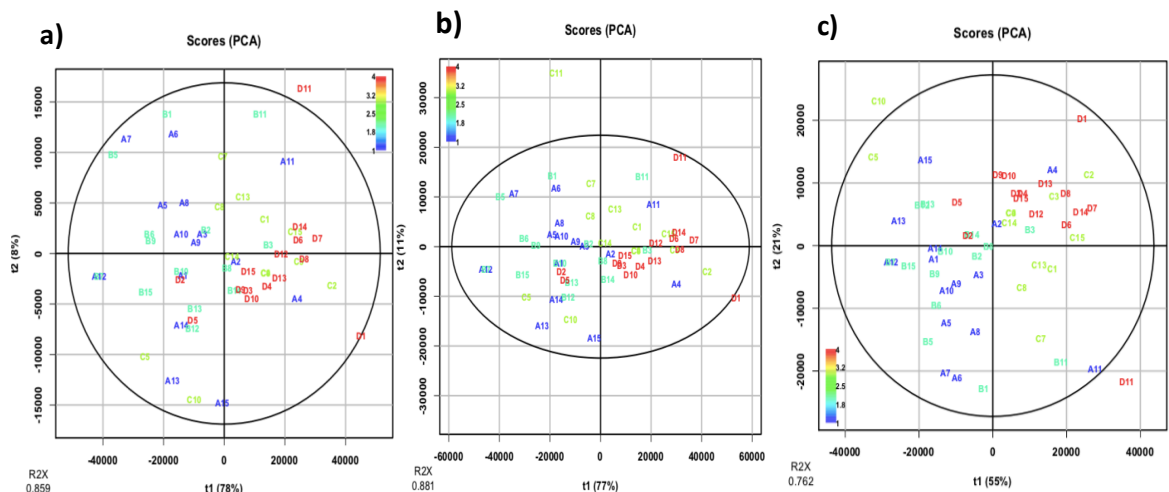


Figura 3: *Scores* (FTIR-ATR) pareto PCA – a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

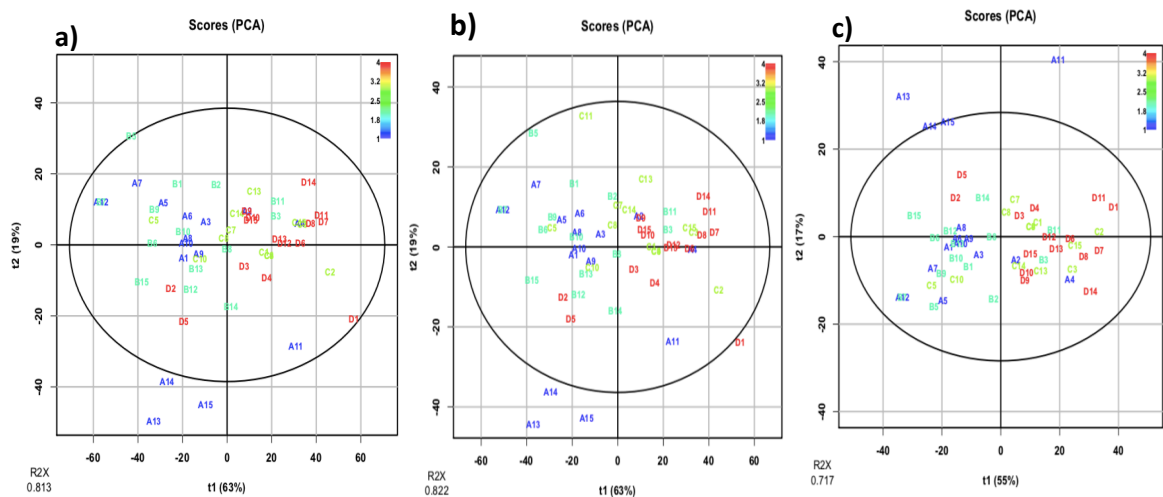


Figura 4: *Scores* (FTIR-ATR) uv PCA – a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

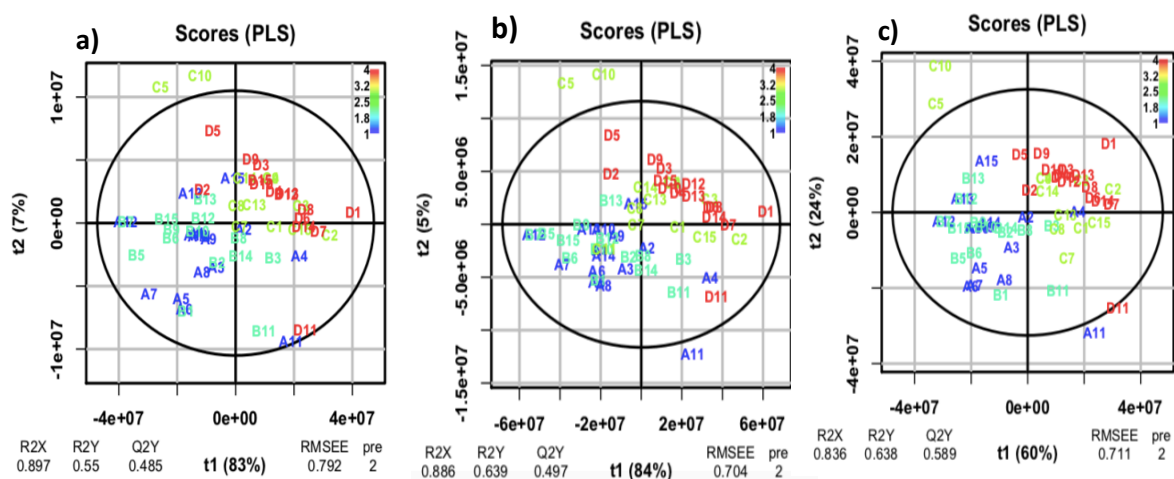


Figura 5: *Scores* (FTIR-ATR) centred PLS – a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

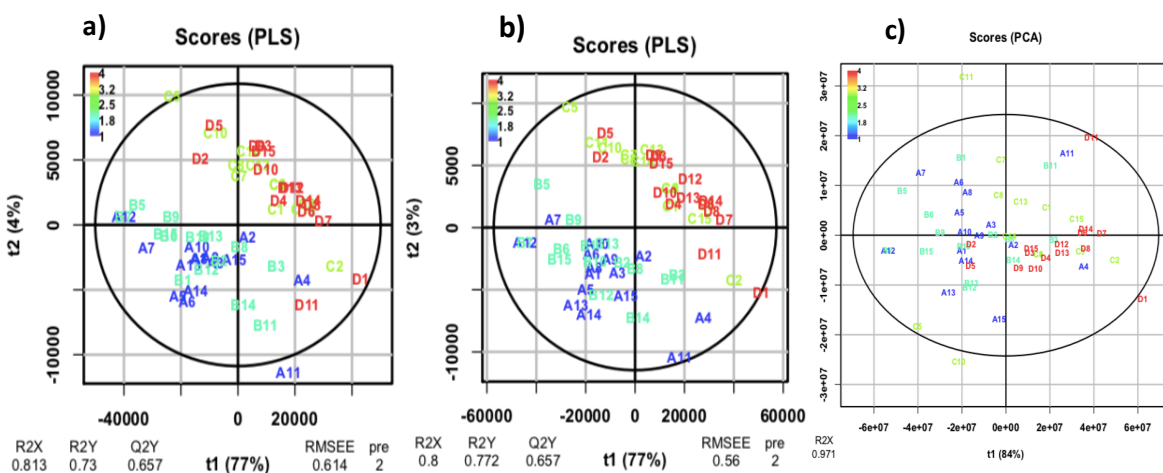


Figura 6: *Scores* (FTIR-ATR) pareto PLS – a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

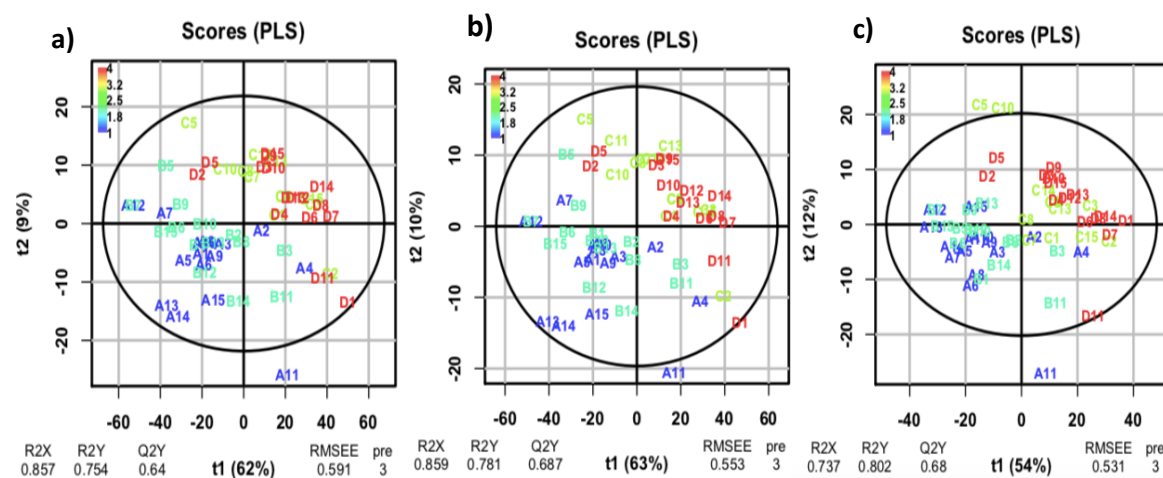


Figura 7: *Scores* (FTIR-ATR) uv PLS - a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

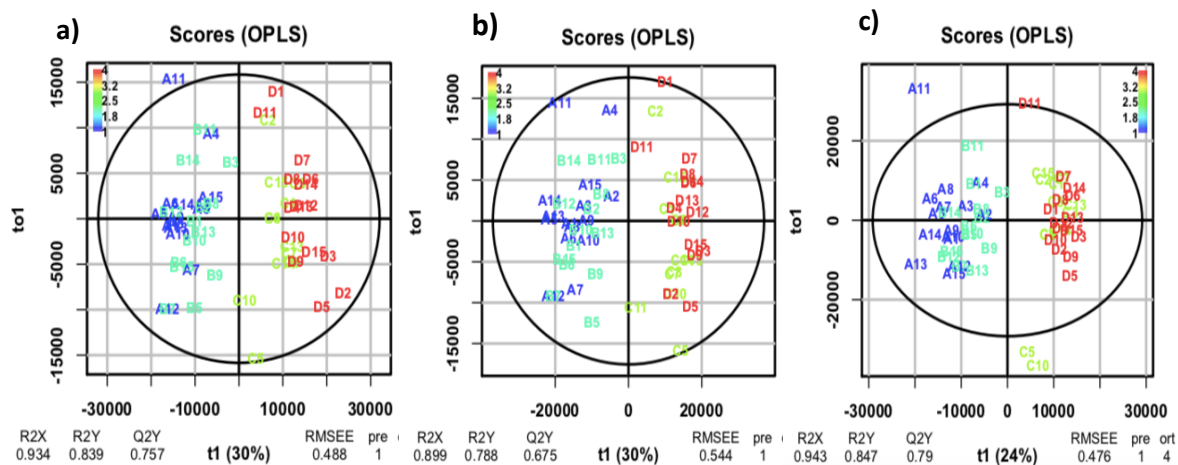


Figura 8: *Scores* (FTIR-ATR) pareto OPLS - a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas); Grupo C - Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bismas opadas))

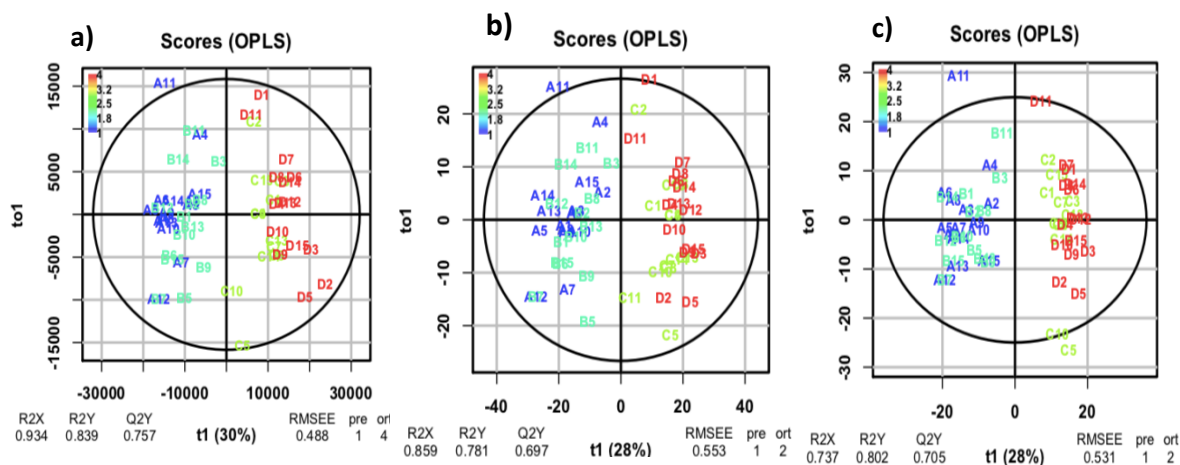


Figura 9: *Scores* (FTIR-ATR) uv OPLS - a) 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ; b) 4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ; c) 3000-900  $\text{cm}^{-1}$ . (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas); Grupo C - Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bismas opadas))

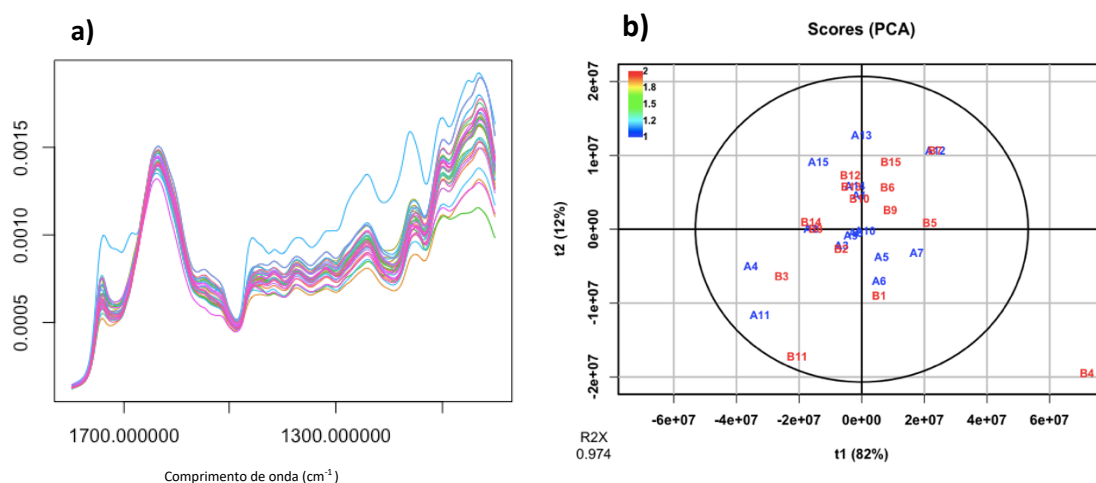


Figura 10: Grupos A e B (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) FTIR-ATR – a) espectros; b) *Scores* centred PCA (para detecção de outliers). Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas).

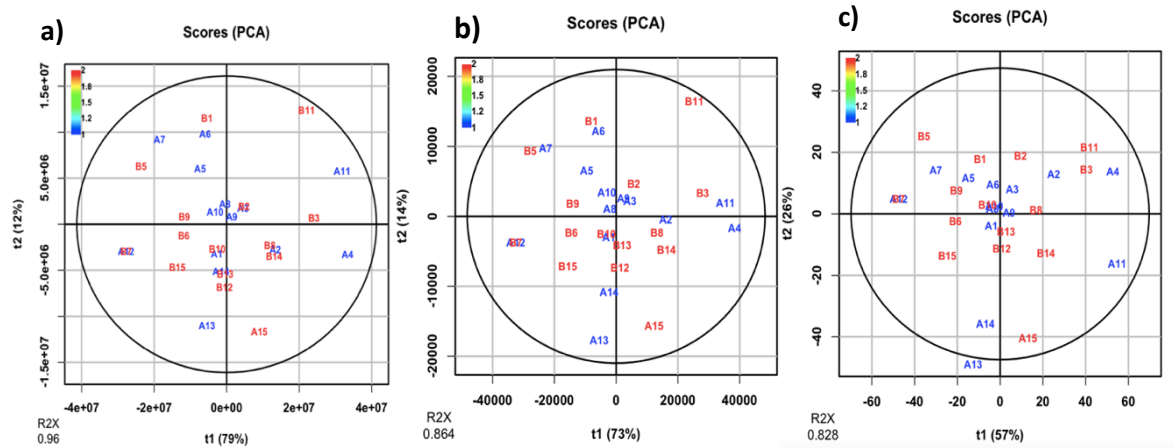


Figura 11: *Scores* (FTIR-ATR) grupos A e B ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) – a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

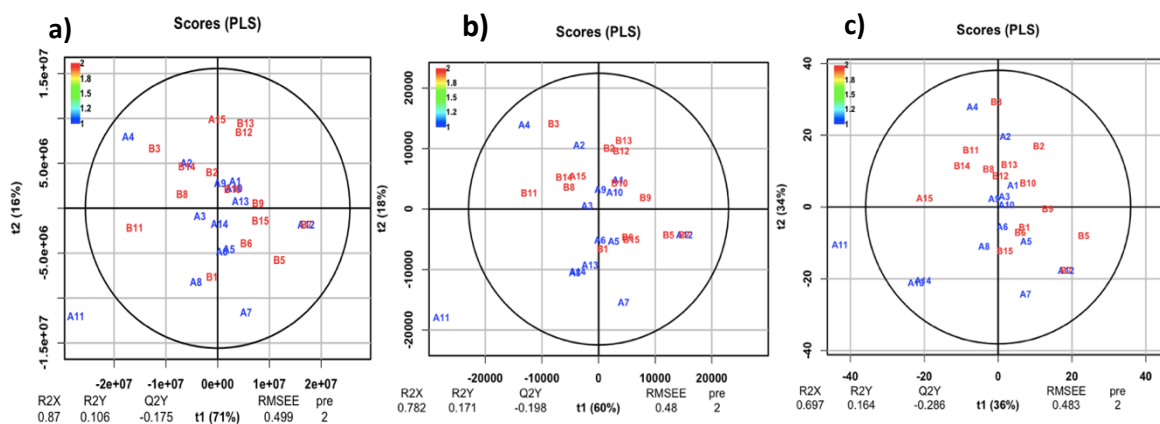


Figura 12: *Scores* (FTIR-ATR) grupos A e B ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) – a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

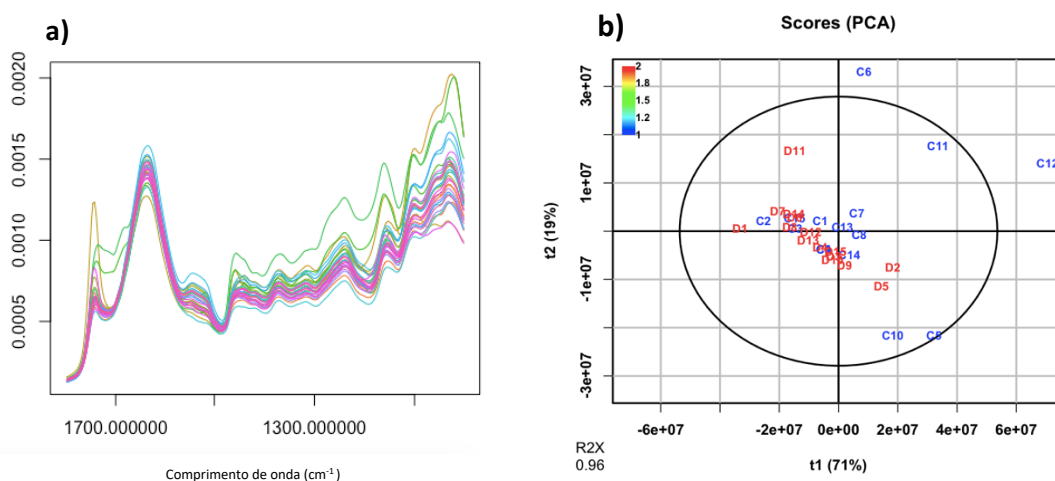


Figura 13: Grupos C e D ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) FTIR-ATR– a) espetros; b) *Scores* centred PCA (para detecção de outliers). Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas).

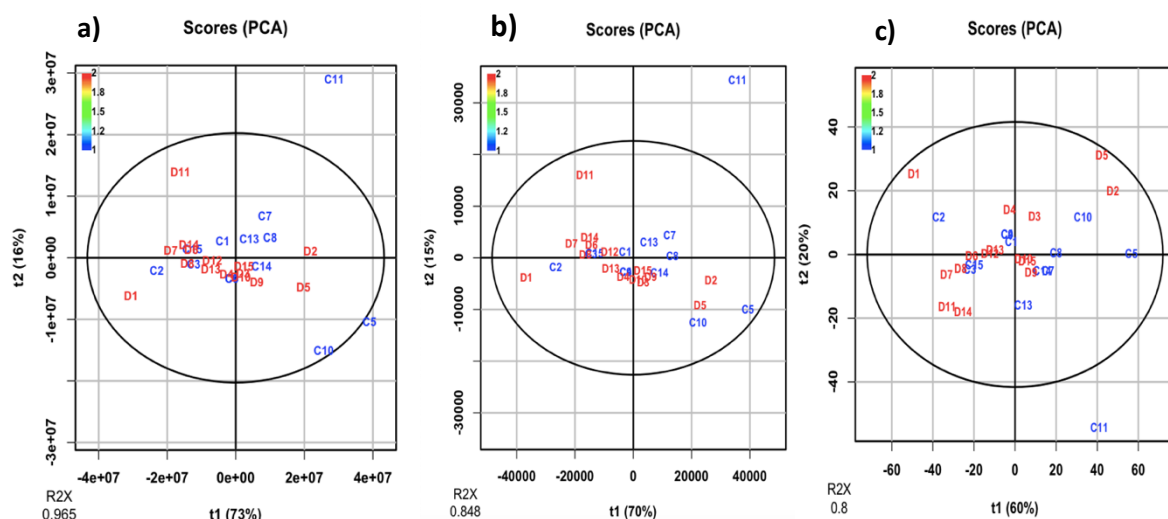


Figura 14: *Scores* (FTIR-ATR) grupos C e D ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) – a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas).

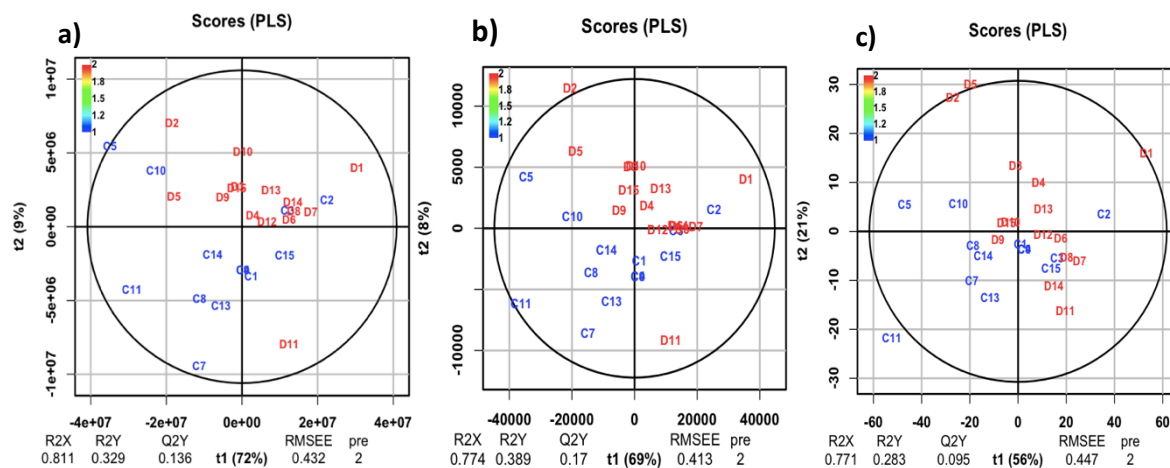


Figura 15: *Scores* (FTIR-ATR) grupos C e D ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) – a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas).

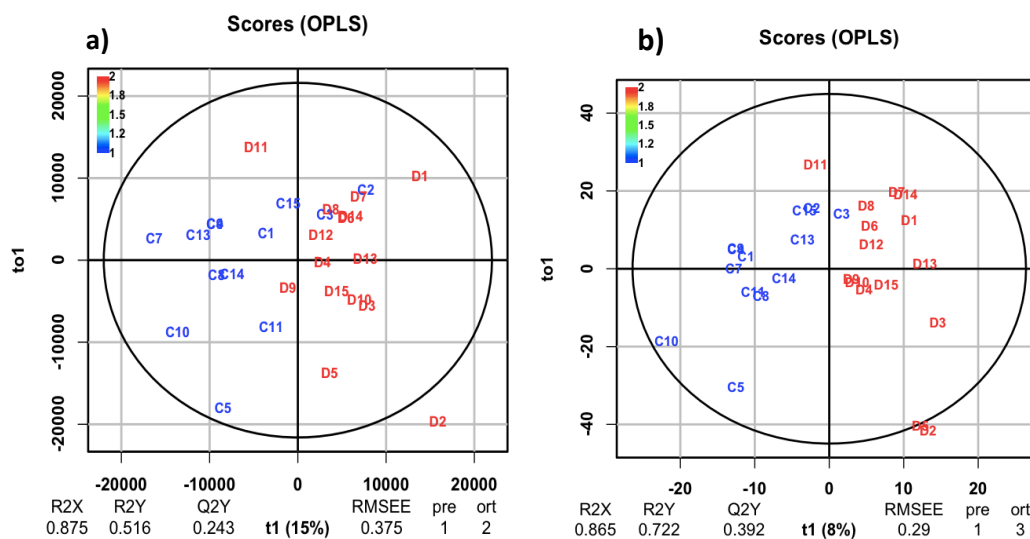


Figura 16: *Scores* (FTIR-ATR) grupos C e D ( $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ) – a) pareto OPLS; b) uv OPLS. Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas).



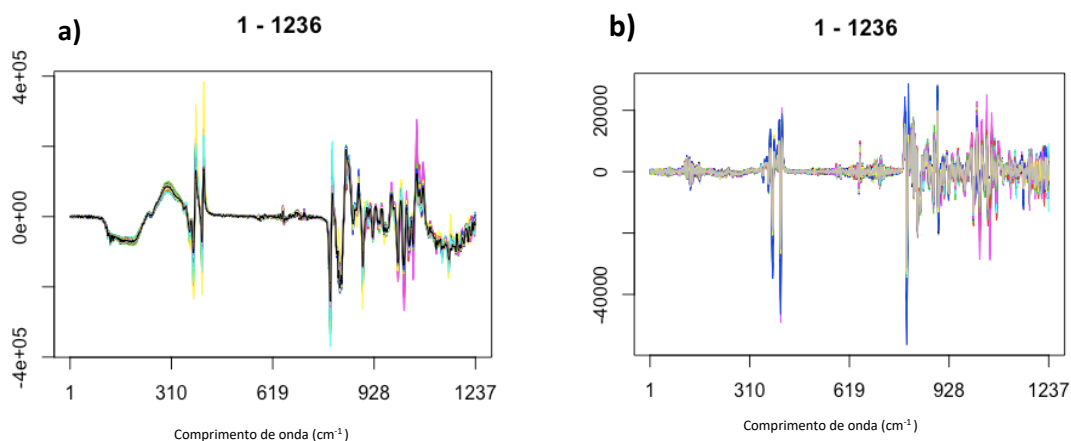


Figura 17: Espectros FTIR-ATR (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) – a) primeira derivada; b) segunda derivada;

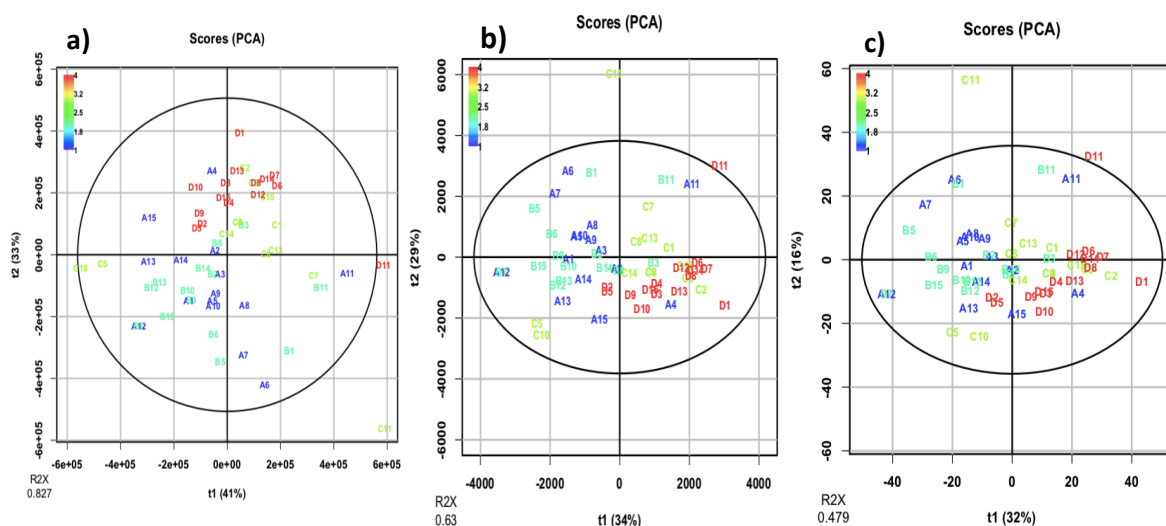


Figura 18: *Scores* FTIR-ATR (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) primeira derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

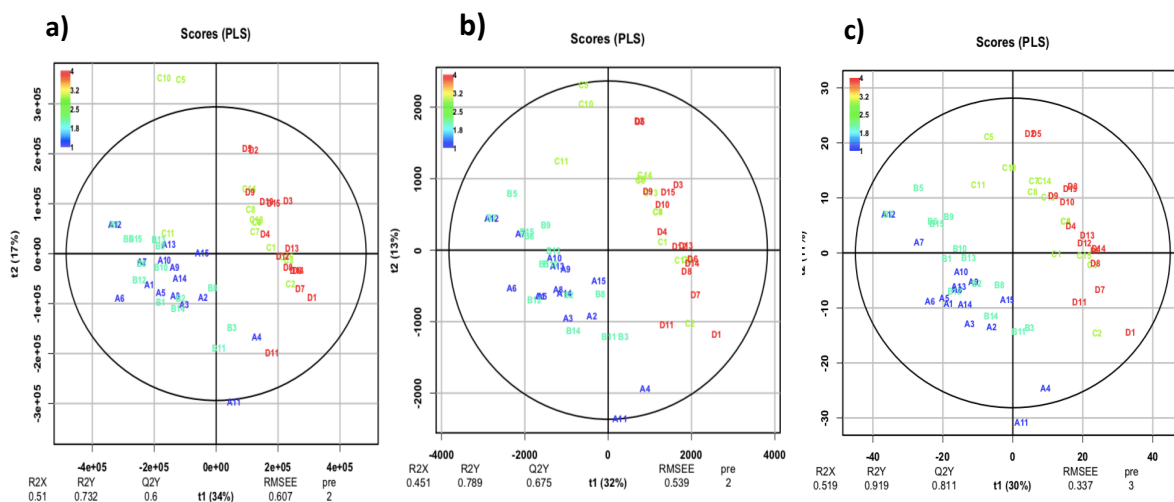


Figura 19: *Scores* FTIR-ATR (4000-500 $\text{cm}^{-1}$ ) primeira derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

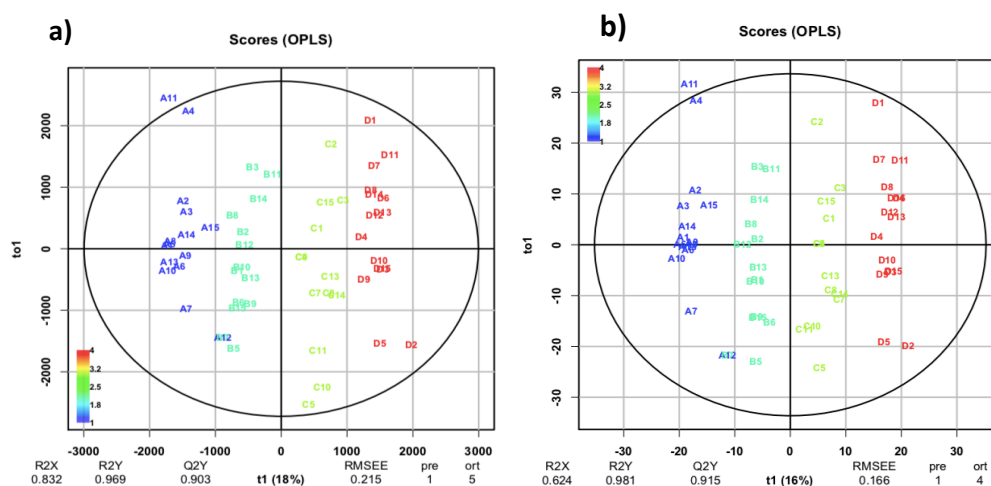


Figura 20: *Scores* FTIR-ATR (4000-500 cm<sup>-1</sup>) primeira derivada– a) pareto OPLS; b) uv OPLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

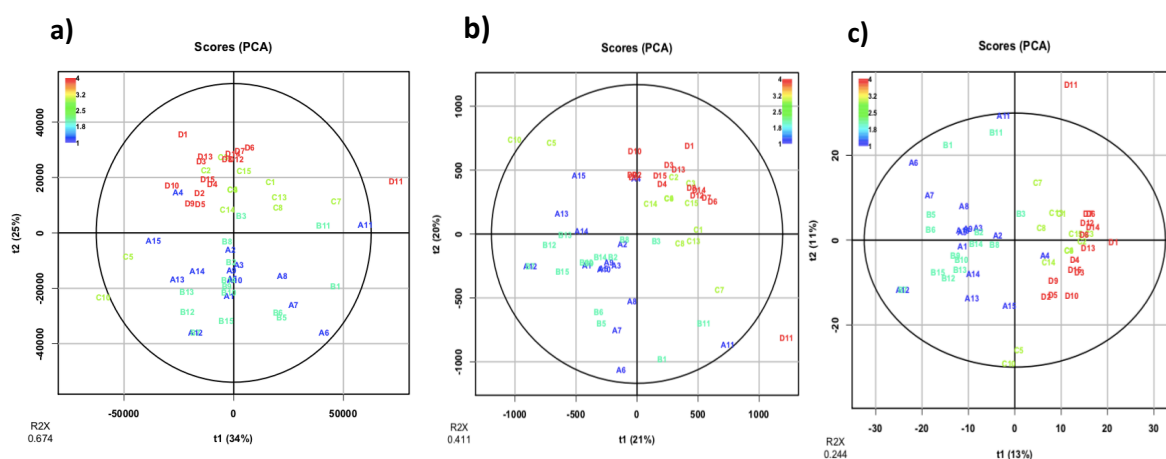


Figura 21: *Scores* FTIR-ATR (4000-500 cm<sup>-1</sup>) segunda derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

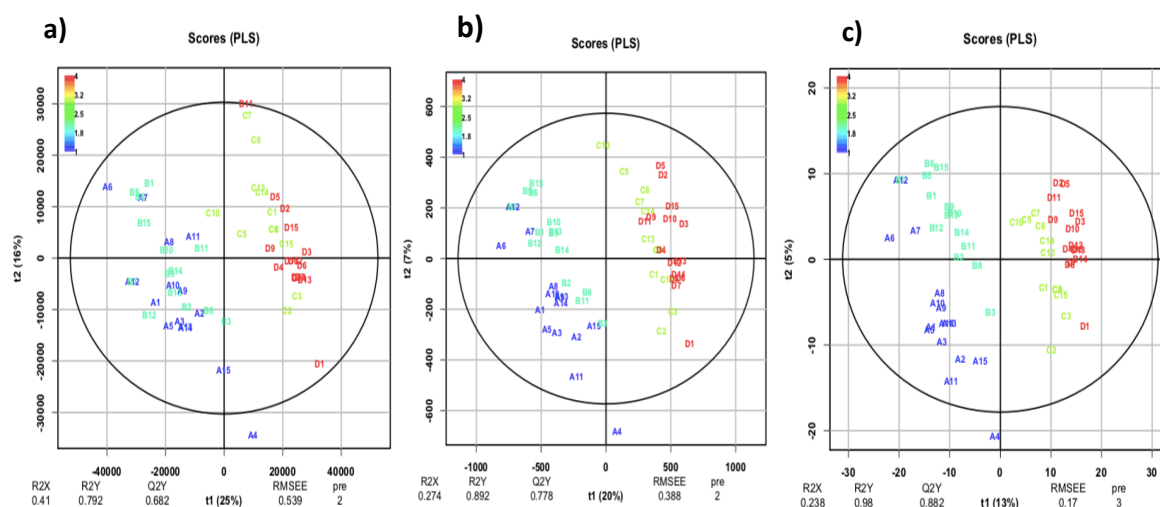


Figura 22: *Scores* FTIR-ATR (4000-500 cm<sup>-1</sup>) segunda derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))



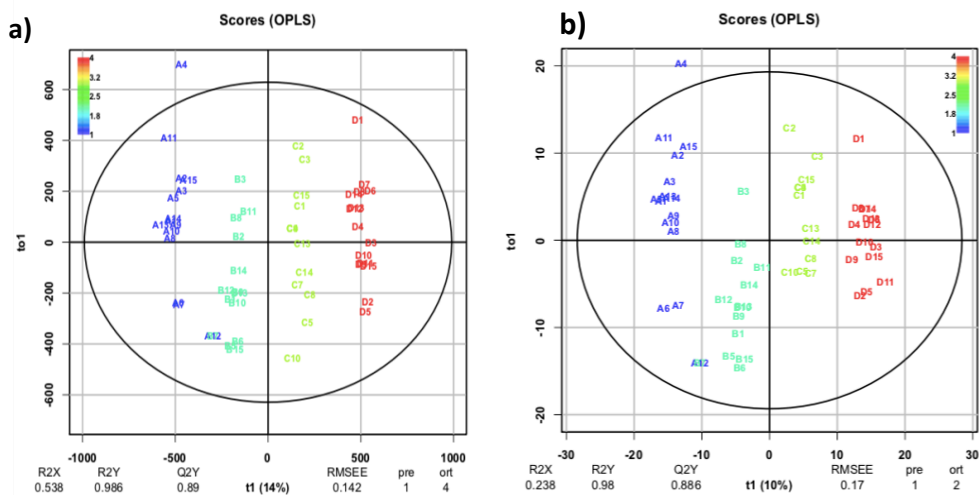


Figura 23: *Scores* FTIR-ATR (4000-500 cm<sup>-1</sup>) segunda derivada– a) pareto OPLS; b) uv OPLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bismas opadas))

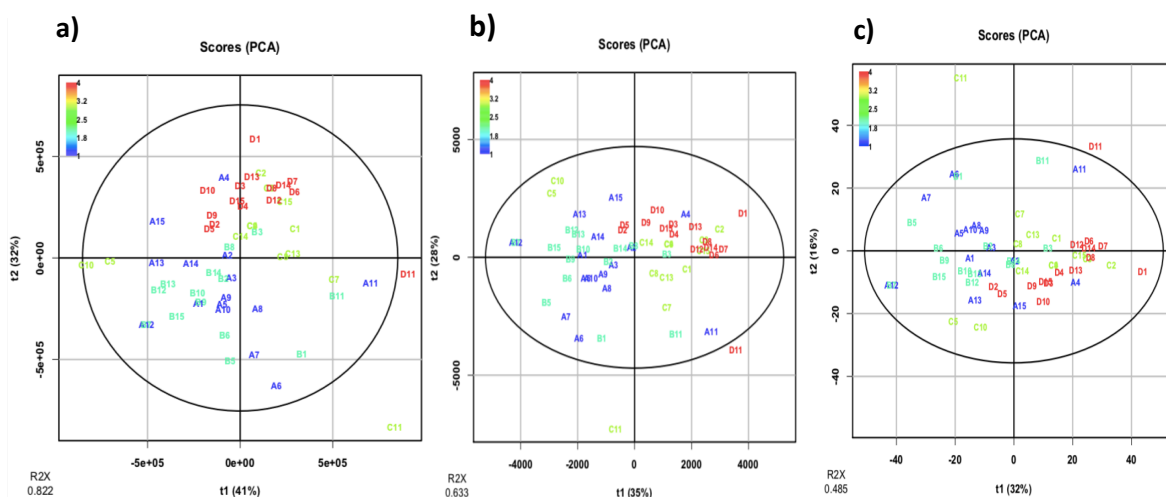


Figura 24: *Scores* FTIR-ATR (4000-900 cm<sup>-1</sup>) primeira derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bismas opadas))

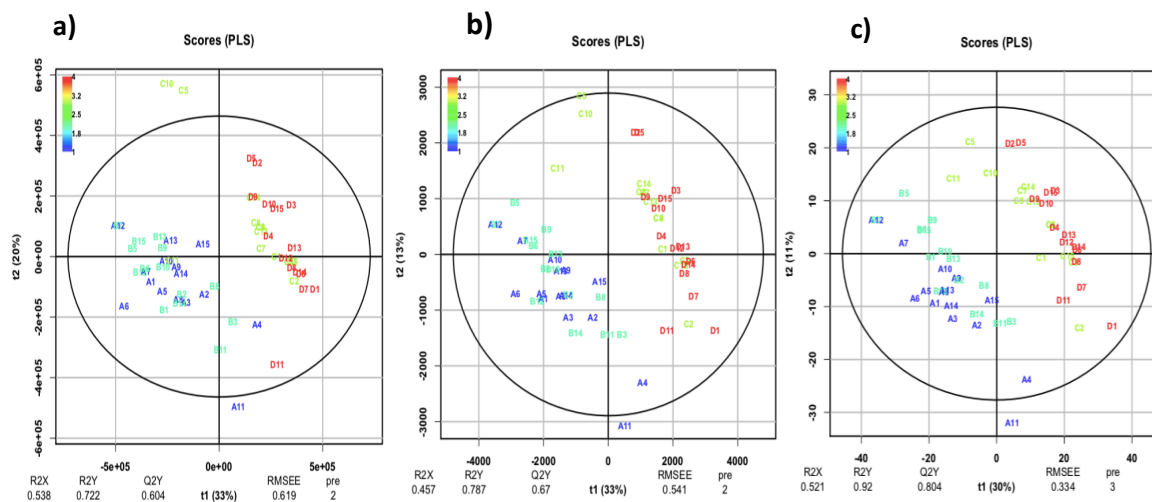


Figura 25: *Scores* FTIR-ATR (4000-900 cm<sup>-1</sup>) primeira derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bismas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bismas opadas))

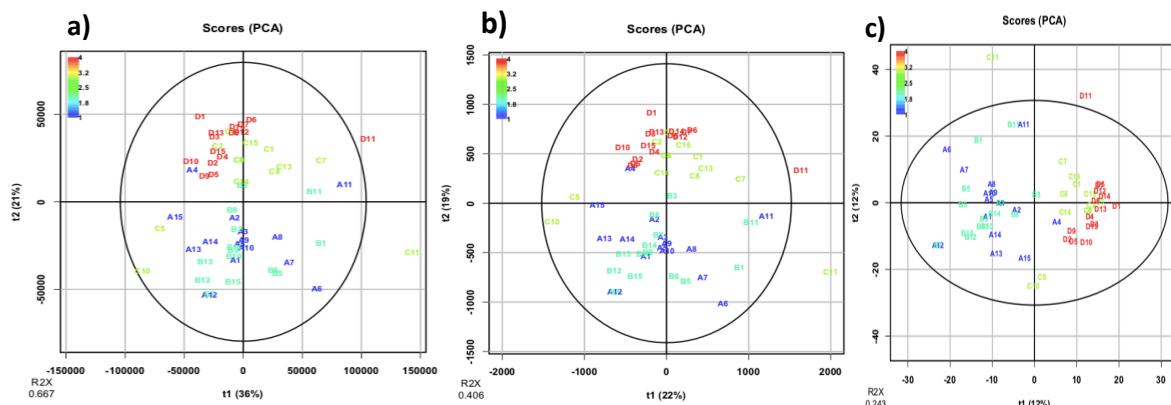


Figura 26: Scores FTIR-ATR (4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

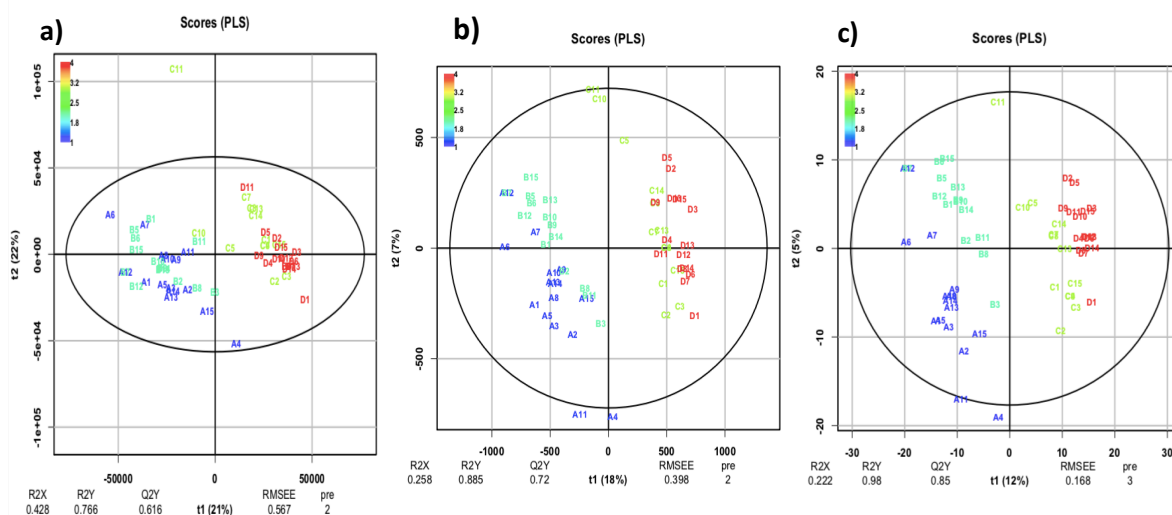


Figura 27: Scores FTIR-ATR (4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

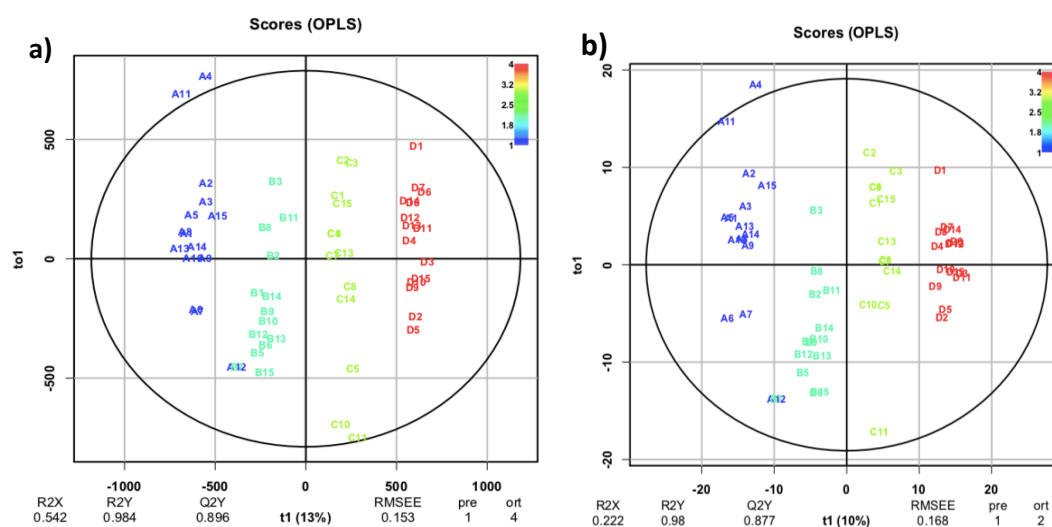


Figura 28: Scores FTIR-ATR (4000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) pareto OPLS; b) uv OPLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

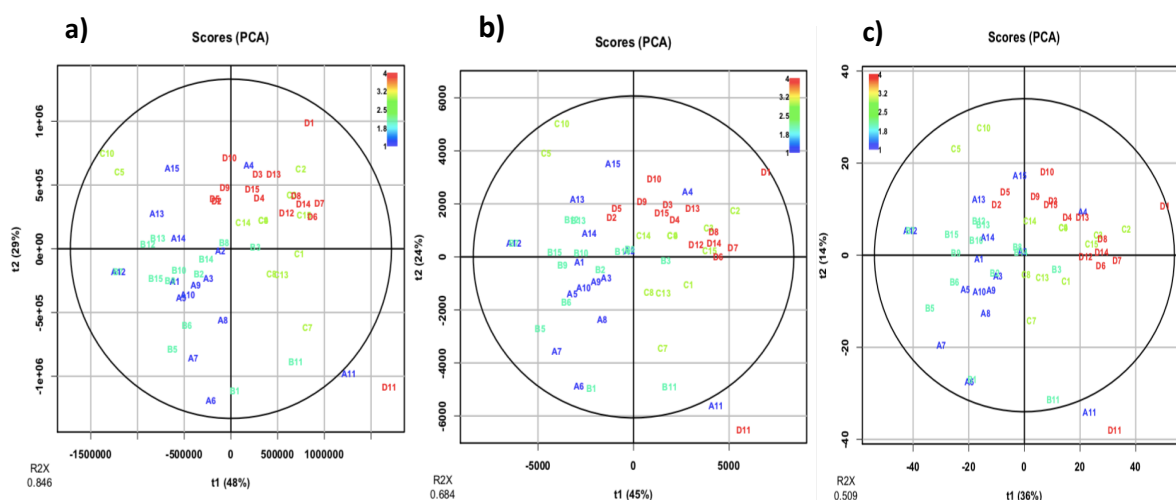


Figura 29: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) primeira derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

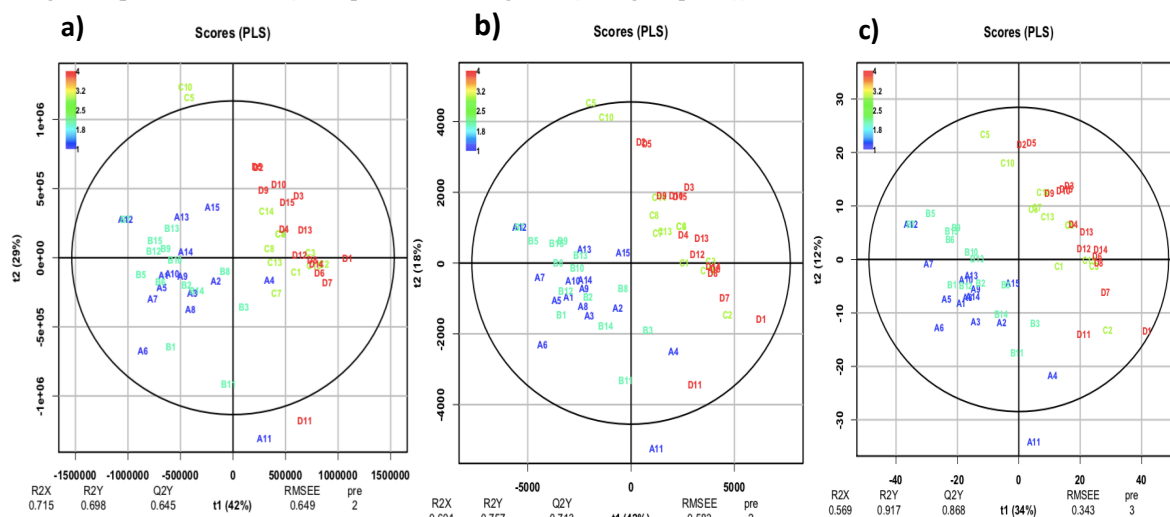


Figura 30: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) primeira derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

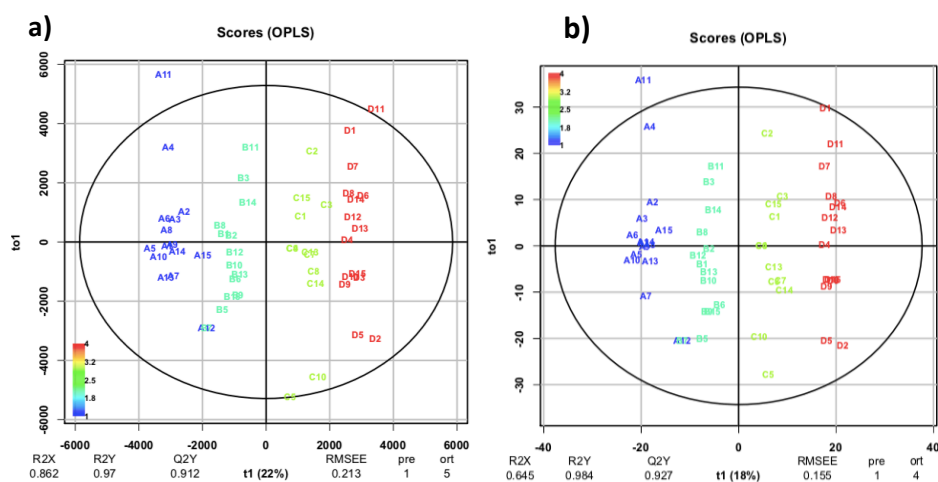


Figura 31: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) primeira derivada– a) pareto OPLS; b) uv OPLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

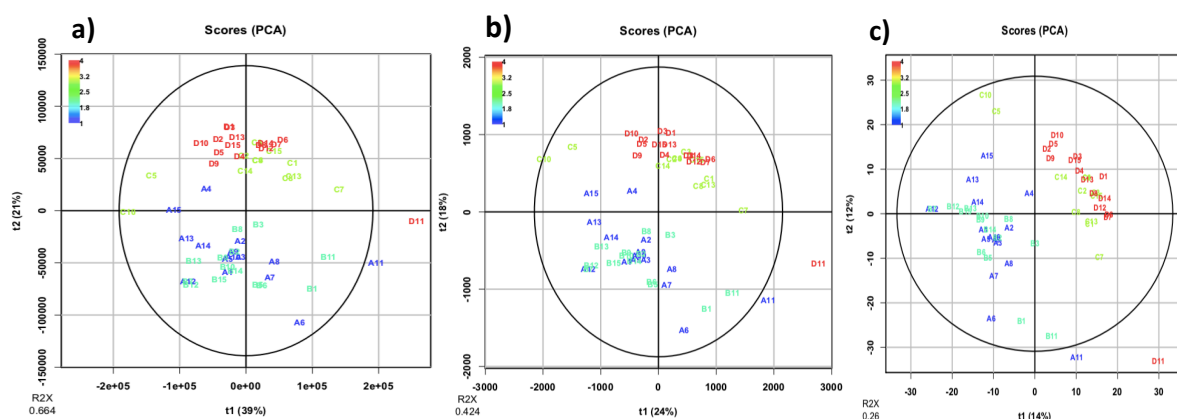


Figura 32: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) centred PCA; b) pareto PCA; c) uv PCA. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

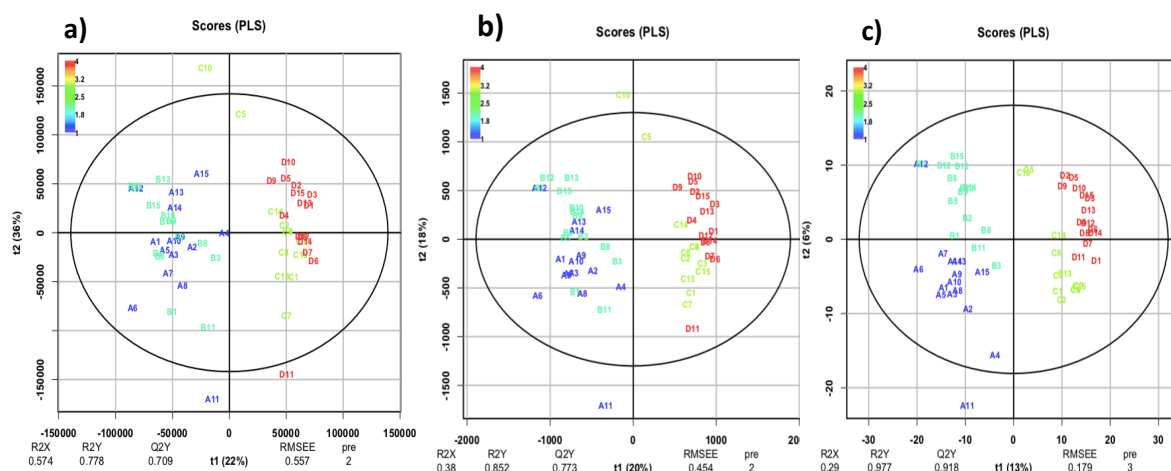


Figura 33: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) centred PLS; b) pareto PLS; c) uv PLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

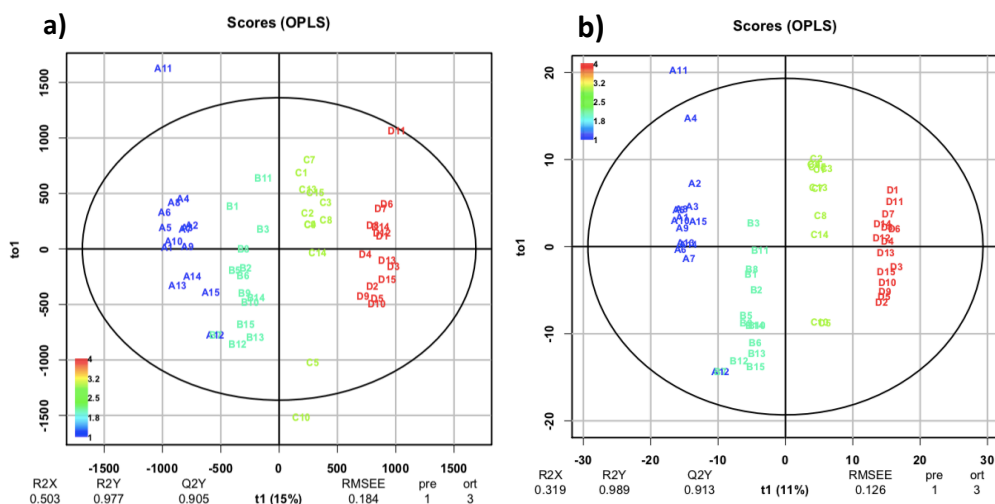


Figura 34: *Scores* FTIR-ATR (3000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) segunda derivada– a) pareto OPLS, uv OPLS. (Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas); Grupo C – Pasta Negrinha (produto conforme); Grupo D - Pasta Negrinha (bisnagas opadas))

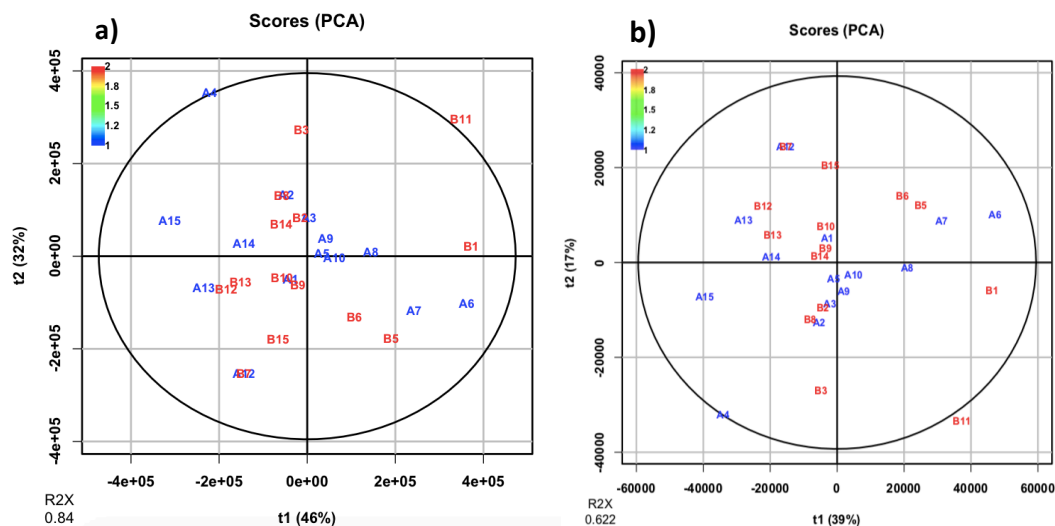


Figura 35: *Scores* FTIR-ATR centred PCA (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos A e B— a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

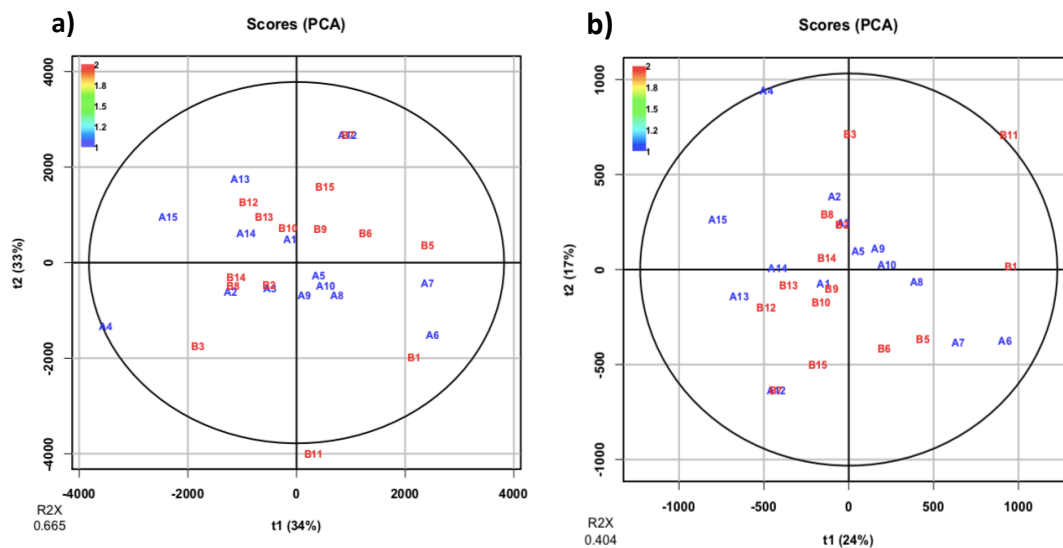


Figura 36: *Scores* FTIR-ATR pareto PCA (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos A e B— a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

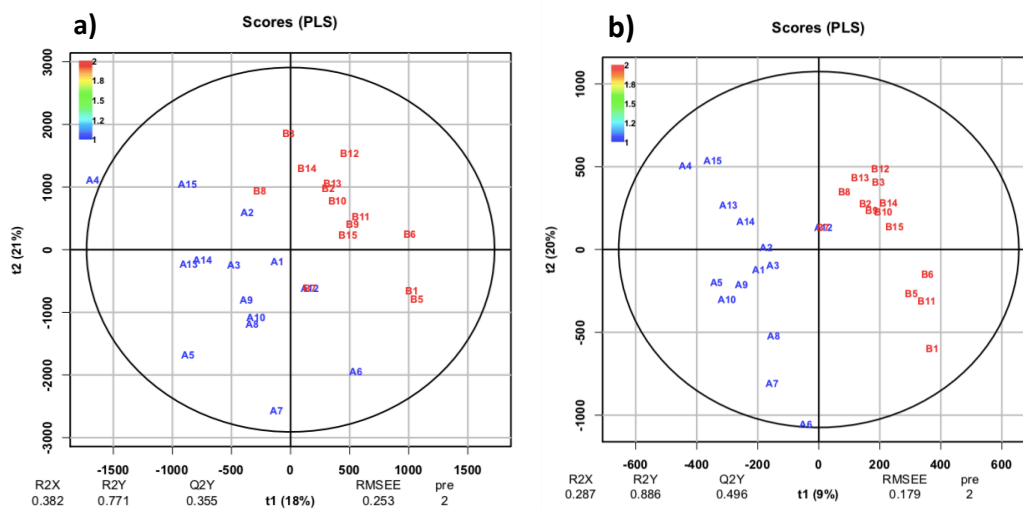


Figura 37: *Scores* FTIR-ATR pareto PLS (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos A e B— a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

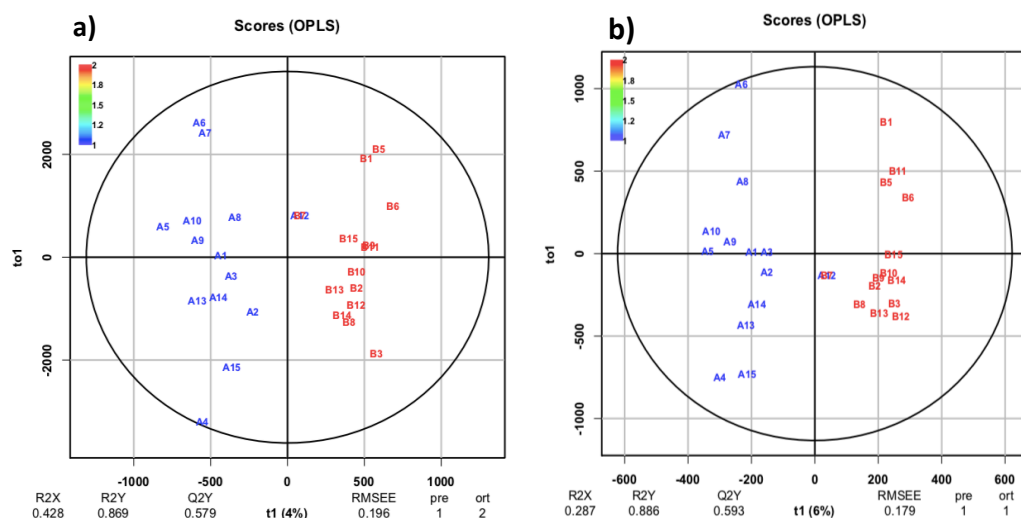


Figura 38: *Scores* FTIR-ATR pareto OPLS (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos A e B– a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

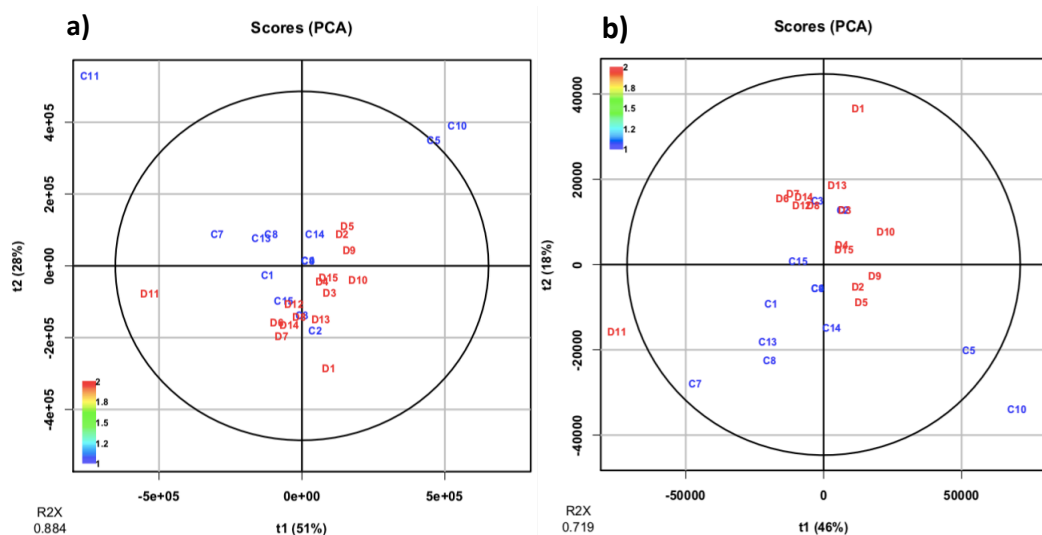


Figura 39: *Scores* FTIR-ATR centred PCA (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos C e D– a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

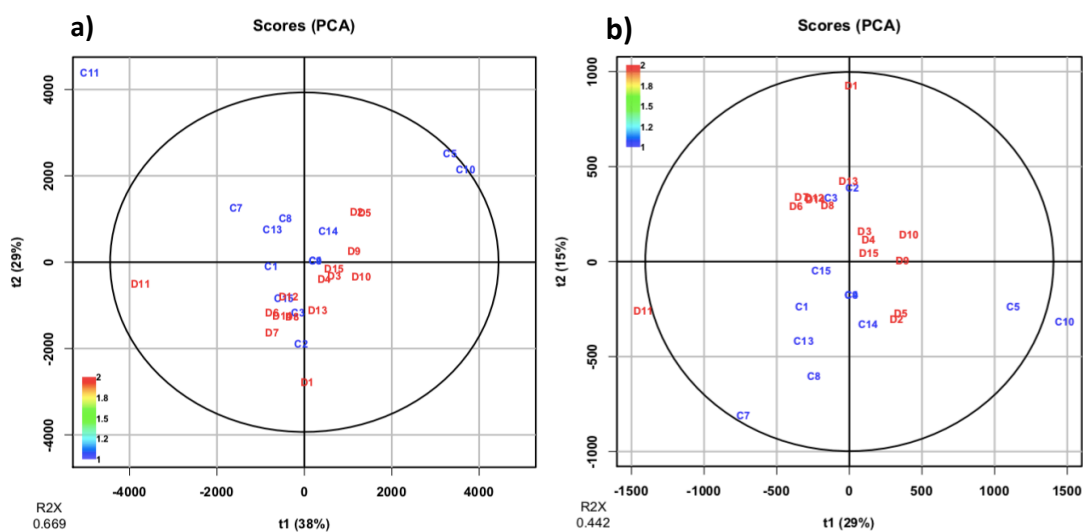


Figura 40: *Scores* FTIR-ATR pareto PCA (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos C e D– a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

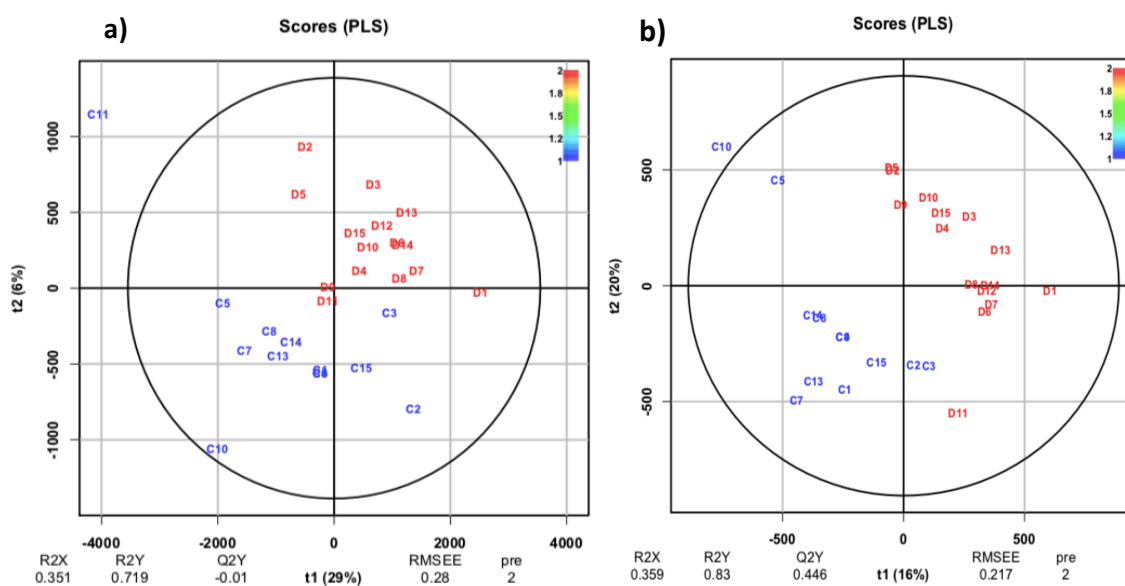


Figura 41: *Scores* FTIR-ATR pareto PLS (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos C e D – a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).

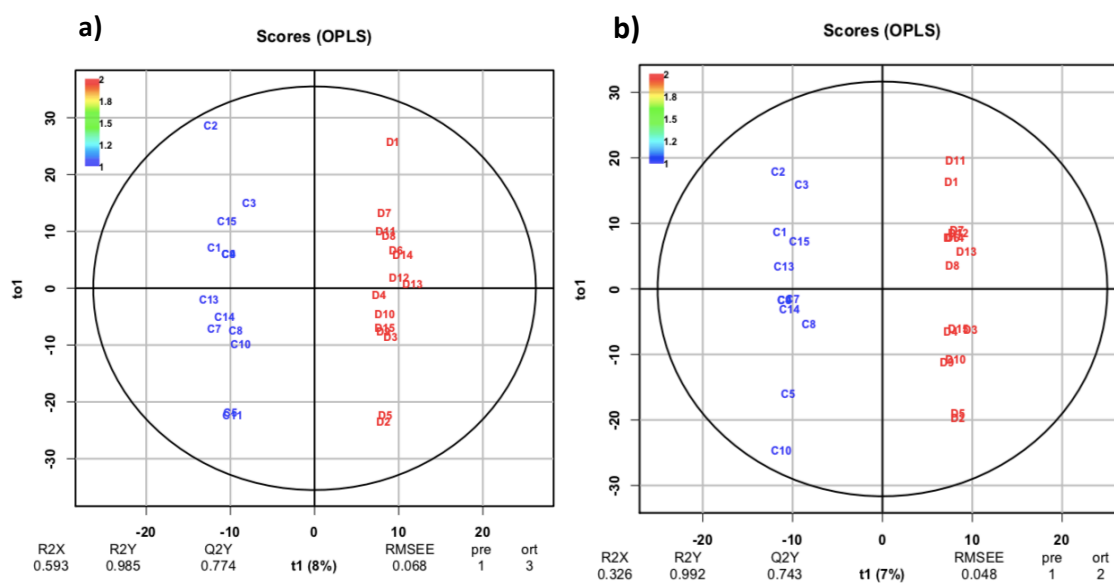


Figura 42: *Scores* FTIR-ATR uv OPLS (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) grupos C e D – a) primeira derivada; b) segunda derivada. Grupo A - Pasta Galega (produto conforme); Grupo B - Pasta Galega (bisnagas opadas).